



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN  
NICOLÁS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS  
MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS

**“Estudio químico de especies arbóreas medicinales  
de Huetamo, Michoacán”**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRA EN CIENCIAS QUÍMICAS**

PRESENTA

**Q.F.B. DALIA IBET DÍAZ ARELLANO**

DIRECTORES

**D.C. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES**  
**D.Q. MARIO ARMANDO GÓMEZ HURTADO**

Morelia, Michoacán; Noviembre, 2021

*“Es justamente la posibilidad de realizar un sueño lo que hace que la vida sea interesante”*

*Paulo Coelho*

## DEDICATORIA

A mi abuelito Chon (Q.E.P.D) que desde el cielo me echa porras. Gracias abuelito por enseñarme que la vida es bella y que siempre hay que sonreírle, gracias por todos los buenos momentos que nos heredaste, pero sobre todo por el cariño que siempre nos brindaste. Un abrazo hasta el cielo...

A mis padres: Ascencion y Lourdes por su amor incondicional, por el apoyo que siempre me han brindado, porque ustedes son lo mejor que Dios me pudo regalar, gracias por darme la vida y enseñarme que todo con perseverancia y dedicación se puede lograr. Por ustedes siempre lucharé por ser mejor cada día...

A mi hermano José Alberto, por ser el mejor hermano del mundo, por todas las sonrisas y vivencias que compartimos juntos, siempre estaré para ti hermano.

A mi abuelita Toña, por ser un ejemplo a seguir, por su risa tan bella y su amor incondicional. Eres una guerrera abue...

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme vida y salud, por la dicha de poder seguir cumpliendo mis sueños, por darme fortaleza y valentía cuando lo necesito.

A mis directores de tesis:

A la Doctora Rosa Elva Norma del Río Torres, por nuevamente darme la oportunidad de trabajar en su grupo de investigación, así como, por su paciencia, confianza y dedicación para el desarrollo de este proyecto. Muchas gracias doctora por todas sus enseñanzas, consejos y todos los momentos compartidos, usted siempre será un gran ejemplo a seguir.

Al Doctor Mario Armando Gómez Hurtado, por incentivarme a mejorar en todo momento, por su paciencia y dedicación para la realización del proyecto, por sus aportaciones para mejorar esta tesis. Gracias por la confianza brindada doctor.

A mis sinodales: D.Q. Gabriela Rodríguez García, D.C. Yliana López Castro y D.C. Hugo Alejandro García Gutiérrez por su apoyo en mi formación académica y su tiempo dedicado para la revisión de esta tesis.

Al D.C. Armando Talavera Alemán por su apoyo para la realización de este trabajo. Muchas gracias Armando por la confianza y por todos los consejos brindados.

Al Q.F.B. José Manuel Zaragoza Ríos y a la D.C. Concepción Armenta Salinas por la determinación de los espectros de RMN.

Al M.C. José Antonio Ferreira Sereno, por la obtención de los espectros de IR.

Al M.C. Ramón Guzmán Mejía por su apoyo en la colección de los datos cristalográficos.

Al M.C. Juan Rivas por su apoyo para el análisis de los datos cristalográficos.

A Brandon, mi futuro compañero de vida, por su amor, por su apoyo incondicional y su comprensión en mis días difíciles, por siempre estar ahí para mí y compartir mis triunfos y mis derrotas. Gracias por estar en mi vida y compartir momentos tan importantes para mí.

A mi sister Yunuén, por estar conmigo en todo momento, por apoyarme y escucharme cuando lo necesito, por darme ánimos en los momentos difíciles. Gracias hermana.

A mis amigas Lupita, Karla, Arianna, Fany, por su amistad y apoyo cuando lo necesito. Gracias por todos los momentos compartidos.

A mi amigo y compañero de trabajo, Daniel, por sus consejos y apoyo, gracias por los momentos compartidos.

A mis compañeros de laboratorio: Ode, Gaby, Sinu, Eva, Esahú, Toño, Monsesita, Irving, Goretti, David, Jan, Alfredo, Gude Michele, Ale, por su amistad, apoyo y consejos, por esas platicas tan bonitas, por hacer del trabajo de laboratorio algo ameno. Gracias por cada momento compartido.

Agradezco a todos mis familiares y seres queridos, por su cariño y apoyo, por compartir conmigo cada momento de mi vida.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Química de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección de la D. C. Rosa Elva Norma del Río Torres y el D. Q. Mario Armando Gómez Hurtado con una beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**873471**).

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>SÍMBOLOS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS</b> .....	i
<b>RESUMEN</b> .....	iii
<b>ABSTRACT</b> .....	iv
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	4
2.1 Medicina tradicional en Huetamo, Michoacán.....	6
2.2 Familia Fabaceae.....	6
2.3 Género <i>Diphysa</i> .....	7
2.4 <i>Diphysa minutifolia</i> .....	9
2.5 Familia Rubiaceae.....	10
2.6 Género <i>Randia</i> .....	12
2.7 <i>Randia echinocarpa</i> .....	15
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	18
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	19
<b>5. METODOLOGÍA GENERAL</b> .....	20
<b>6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	21
6.1 Análisis de extractos de corteza de <i>Diphysa minutifolia</i> mediante RMN de <sup>1</sup> H.....	21
6.2 Estudio químico del extracto de AcOEt de la corteza de <i>Diphysa minutifolia</i> .....	23
6.3 Estudio químico del extracto de MeOH de la corteza de <i>Diphysa minutifolia</i> .....	35
6.4 Análisis de extractos de frutos de <i>Randia echinocarpa</i> .....	39
6.5 Estudio químico del extracto de AcOEt del fruto de <i>Randia echinocarpa</i> .....	40
6.6 Estudio químico del extracto de MeOH del fruto de <i>Randia echinocarpa</i> .....	45
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	55
<b>8. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	57
8.1 Generalidades.....	57
8.2 Material vegetal.....	58
8.3 Obtención de extractos.....	58
8.3.1 Obtención de extractos de la corteza de <i>Diphysa minutifolia</i> .....	58

8.3.2 Obtención de extractos de los frutos de <i>Randia echinocarpa</i> .....	59
8.4 Aislamiento del 5,7,4',5'',7'',4''-hexahidroxi-(3,3'')-biflavanona ( <b>5</b> ).....	59
8.5 Obtención del 5,7,4',5'',7'',4''-hexaacetoxi-(3,3'')-biflavanona ( <b>42</b> ).....	60
8.6 Aislamiento de 3,4-dihidro-4(4'-hidroxifenil)-5,7-dihidroxi-(3,3'')- bicoumarina ( <b>10</b> ).....	60
8.7 Obtención del 3,4-dihidro-4(4'-acetoxifenil)-5,7-acetoxi-(3,3'')- bicoumarina ( <b>11</b> ).....	61
8.8 Aislamiento de la Ormocarpina ( <b>43</b> ).....	61
8.9 Obtención del ácido quinóvico 3 $\beta$ -O-( $\beta$ -D-glucopiranosil-(27 $\rightarrow$ 1''))- $\beta$ - D-glucopiranosil éster ( <b>45</b> ).....	61
8.10 Aislamiento del gardenósido ( <b>28</b> ).....	62
8.11. Obtención del 8,10,2',3',4',6'-hexaacetilgardenósido ( <b>46</b> ).....	62
<b>9. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	63
<b>10. APÉNDICE.</b> Rayos X.....	72
<b>10.1. APÉNDICE.</b> Constancia de determinación taxonómica de <i>Diphyssa minutifolia</i> .....	80

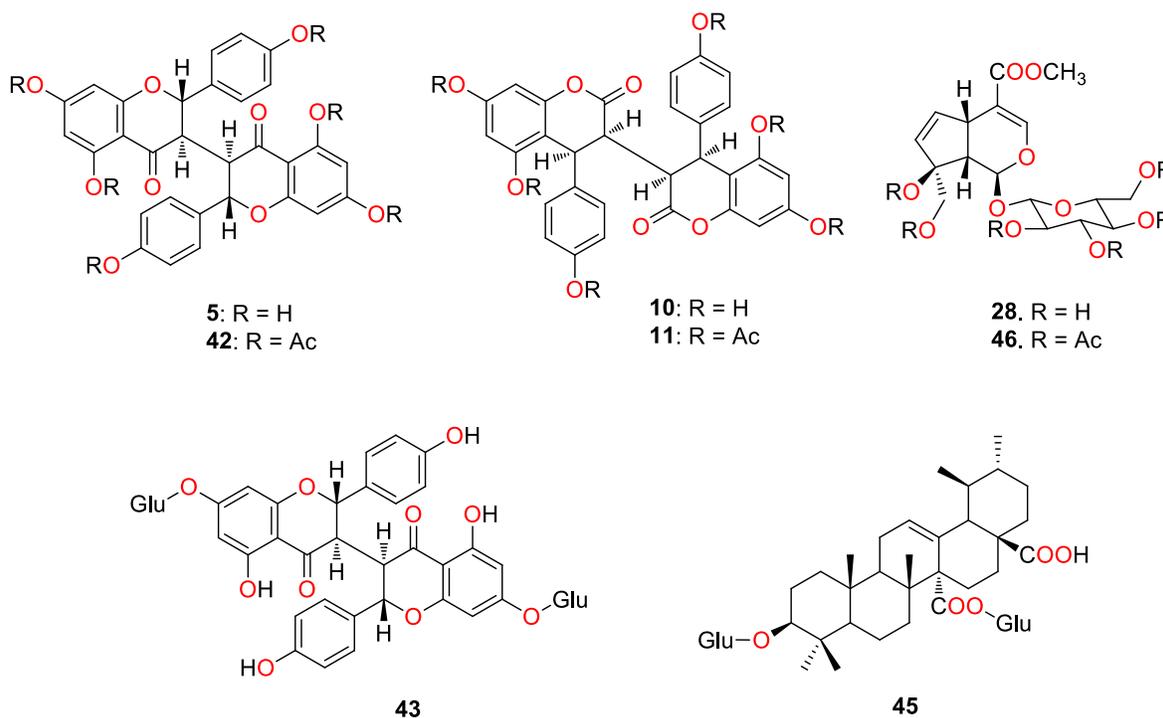
## SÍMBOLOS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

Å	Ángstrom
Acetil-CoA	Acetil coenzima A
AcOEt	Acetato de etilo
Ara	Arabinosa
C	Carbono
°C	Grados Celsius
COVID-19	Enfermedad causada por el coronavirus SARS-CoV-2
COSY	Correlation Spectroscopy
d	Doble
dd	Doble de doble
δ	Desplazamiento químico
DCE	Dicroísmo Circular Electrónico
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	Dimetilsulfóxido deuterado
Exp.	Experimental
FDA	Food and Drug Administration
Fig.	Figura
Fu	Fucosa
g	Gramos
Glu	Glucosa
h	Hora
HETCOR	Heteronuclear Correlation Spectroscopy

Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
IE-MS	Espectrometría de masas por impacto electrónico
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
K	Kelvin
Kg	Kilogramo
Lit.	Literatura
m	Múltiple
mg	Miligramos
MHz	MegaHertz
MeOH	Metanol
mL	Mililitro
<i>n</i> -BuOH	<i>n</i> -Butanol
OMS	Organización Mundial de la Salud
ppm	Partes por millón
pf	Punto de fusión
Ram.	Ramposa
RMN de <sup>1</sup> H	Resonancia Magnética Nuclear de Protón
RMN de <sup>13</sup> C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
s	Simple
sa	Simple ancha
SK-MEL-2	Línea Celular de melanoma humano
TMS	Tetrametilsilano
t	Triple

## RESUMEN

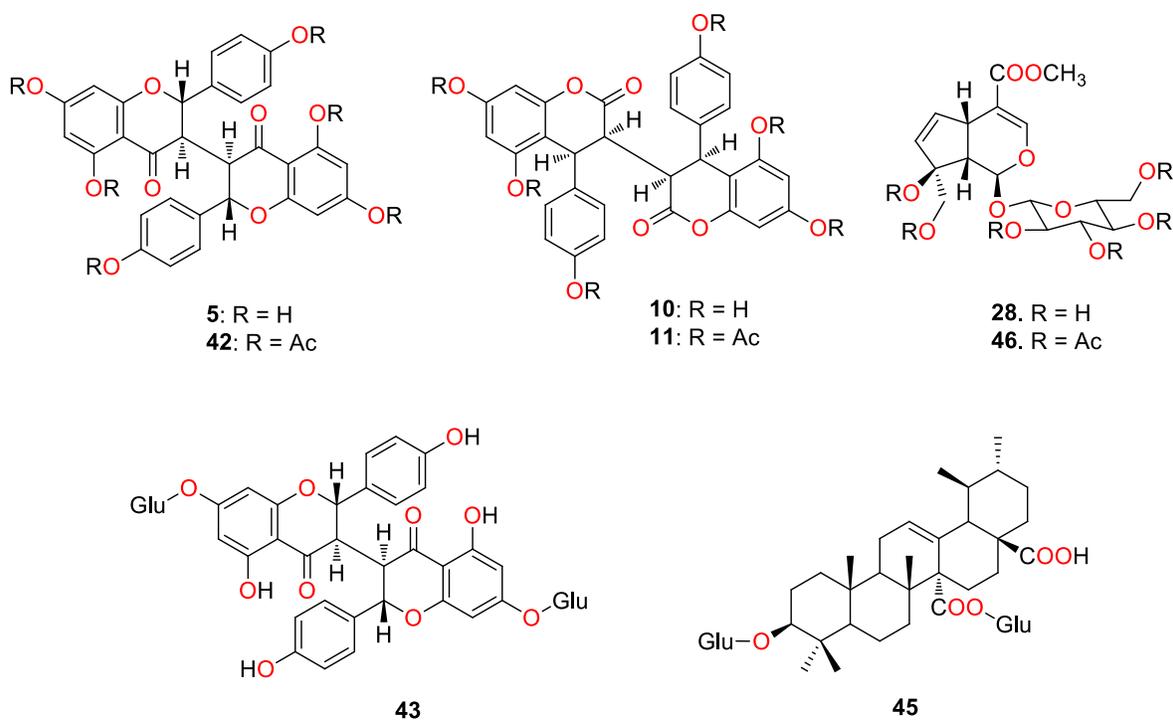
El estudio químico de los extractos polares de la corteza de *Diphysa minutifolia* permitió el aislamiento de los metabolitos secundarios mayoritarios, chamaejasmina (**5**), difisina (**10**) y ormocarpina (**43**). La derivatización de **5** y **10** permitió la obtención de los hexaacetatos **42** y **11**, respectivamente. La estructura dimérica de **11** se corroboró mediante difracción de rayos X de monocristal. Adicionalmente, los estudios químicos de los extractos de acetato de etilo (AcOEt) y metanólico (MeOH) de los frutos de *Randia echinocarpa* fueron realizados de manera independiente. Del extracto de AcOEt se aisló al ácido quinóvico glucosilado (**45**), mientras que del extracto MeOH se obtuvo al gardenósido (**28**), que mediante su peracetilación se generó al derivado **46**. Todos los compuestos fueron caracterizados mediante sus datos físicos y espectroscópicos.



**Palabras clave:** *Diphysa minutifolia*, chamaejasmina, difisina, *Randia echinocarpa*, gardenósido.

## ABSTRACT

The phytochemical study of polar extracts from barks of *Diphysa minutifolia* allowed the isolation of chamaejasmin (**5**), diphyisin (**10**), and ormocarpin (**43**) as the major constituents. Chemical derivatization of **5** and **10** yielded the respective hexaacetates derivatives (**42** and **11**). The dimeric nature of **11** was supported by single crystal X-ray diffraction. In addition, phytochemical studies of ethyl acetate and methanolic extracts from fruits of *Randia echinocarpa*, were individually attained. The AcOEt extract gave the quinovic acid glucoside (**45**), while MeOH extract provided gardenoside (**28**), whose peracetylation yielded derivative **46**. All compounds were characterized by their physic and spectroscopic data.



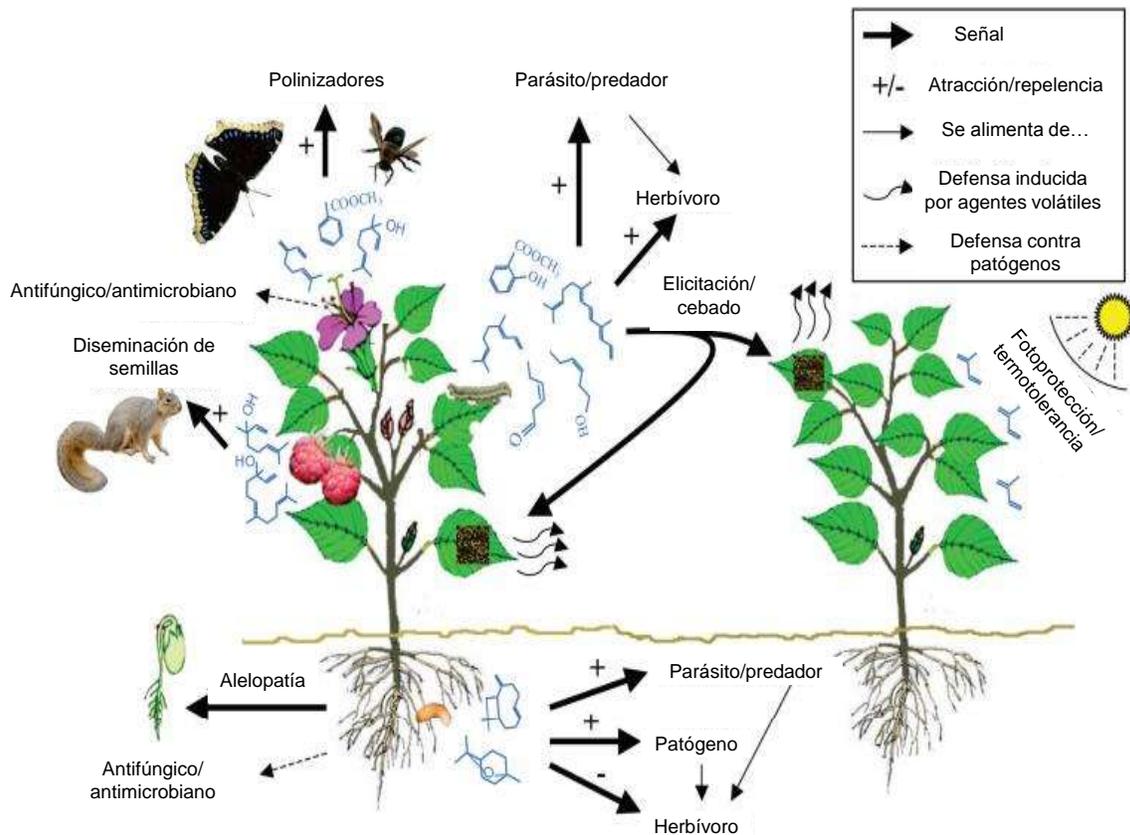
**Key words:** *Diphysa minutifolia*, chamaejasmin, diphyisin, *Randia echinocarpa*, gardenoside.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han sido descubiertas con los intentos de adquirir fuentes curativas y alimenticias por nuestros ancestros, siendo éstas desde la antigüedad y hasta el momento, de importancia debido a que ostentan el principal papel protagónico para la cura de enfermedades de manera natural (Cruz, 2007). Se tiene estimado que del 80% de los habitantes de los países en desarrollo, unos 3000 millones de personas, tienen en las plantas su principal fuente de tratamiento. Es esta una de las razones por la que la OMS promueve cada vez con más intensidad el estudio de las plantas utilizadas en la medicina tradicional herbolaria (Fuentes, 2004).

Las plantas al ser organismos sésiles, tienen que adaptarse al entorno circundante durante su ciclo de vida, por lo que han desarrollado varios mecanismos para su interacción con el medio ambiente (Dudareva *et al.*, 2006) destacando su metabolismo secundario, a partir del cual construyen sustancias que son de utilidad para su defensa y supervivencia (Esquema 1.1). Estas suelen tener una distribución limitada en la naturaleza y son una expresión de la individualidad de las especies (Dewick, 2009). Se sabe que son moléculas orgánicas que suelen ser químicamente reactivas (Anaya & Espinoza, 2006) y se conocen como metabolitos secundarios, o bien, productos naturales.

Los metabolitos secundarios se biosintetizan a partir de bloques de construcción que incluyen a la Acetil-CoA, ácido shikímico, ácido mevalónico y aminoácidos, a partir de los cuales se deriva una gran cantidad de productos, entre los que destacan terpenos, compuestos fenólicos y alcaloides, que han demostrado aplicaciones como medicamentos (Zhao *et al.*, 2017), insecticidas (Vázquez-Luna *et al.*, 2007) y colorantes (Rahma & Saadon, 2019). En los últimos 39 años, se ha reportado que aproximadamente el 23.5% de los medicamentos aprobados por la *Food and Drug Administration* (FDA) tuvieron su origen en un producto natural (Newman & Cragg, 2020).

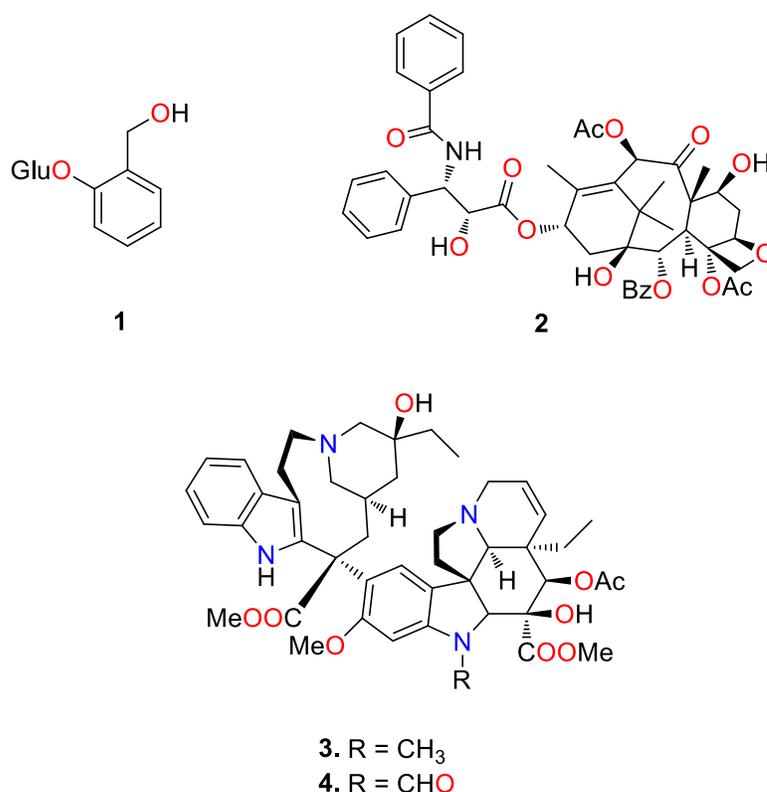


**Esquema 1.1.** Interacción de las plantas con el medio ambiente (Modificado de Dudavera *et al.*, 2006).

La investigación de los productos naturales involucra áreas de estudio como la química, bioquímica, biología, quimiotaxonomía y farmacognosia, destacando la química de productos naturales (fitoquímica), que se enfoca en el aislamiento y caracterización de los metabolitos secundarios de las plantas, los cuales posteriormente pueden demostrar actividad biológica y ser utilizados en la terapia de diversas enfermedades, o bien, como modelo para la síntesis de moléculas de importancia industrial (Pabón & Hernández-Rodríguez, 2012).

El análisis de una planta medicinal con uso tradicional muchas veces ha conducido al aislamiento de sustancias con actividad biológica, como el descubrimiento de la salicina (1) en el siglo XIX, aislada del árbol del sauce (*Salix alba*), de importancia para la síntesis de lo que ahora conocemos como ácido

acetilsalicílico (Weissmann, 1991); el aislamiento del terpenoide paclitaxel (**2**) (Kingston, 1993) a partir de la corteza de *Taxus brevifolia*, fármaco útil para el tratamiento de cáncer de ovario, mama y pulmón (Nazhand *et al.*, 2019) y los alcaloides vinblastina (**3**) y vincristina (**4**), aislados de *Catharanthus roseus*, fármacos de valor para el tratamiento de la leucemia (Mesa, 2017).



**Figura 1.1.** Metabolitos secundarios con actividad biológica.

En los últimos años se ha avanzado de manera importante en el estudio de productos naturales; sin embargo, aún existe la necesidad de investigar la composición química de plantas, con la finalidad de obtener moléculas activas y comprobar los efectos terapéuticos que le son atribuidos a plantas medicinales.

El empleo de plantas en la actualidad sigue siendo de importancia alrededor del mundo y el estado de Michoacán no es la excepción; debido a esto, en el presente proyecto se realizó el estudio químico de las especies vegetales *Diphysa minutifolia* y *Randia echinocarpa* conocidas comúnmente como “Shure” y “Chacua” respectivamente, ubicadas en la región de Tierra Caliente, las cuales

tienen importancia por su uso en la medicina tradicional del municipio de Huetamo, Michoacán.

## 2. ANTECEDENTES

La medicina tradicional se basa en el conocimiento ambiental local, es adaptativa a los conceptos espacio-temporales y sus poseedores son principalmente los pueblos originarios. Esta práctica tiene mayor antigüedad que cualquier otra terapia, siendo el consumo sistemático de plantas con atributos medicinales remontado a aproximadamente dos millones de años en África (Chifa, 2010). En México existe una extensa variedad de tratamientos fitoterapéuticos (Martínez, 1996) además, es uno de los países de mayor riqueza florística, ocupa el cuarto lugar mundial en biodiversidad; en su territorio crecen unas 30,000 especies vegetales, que representan alrededor del 10% de la flora del mundo (Villaseñor, 2003). Se estima que en el país existen alrededor de 4,000 especies de plantas con flores que tienen atributos medicinales, considerándose que la validación química, farmacológica y biomédica de los principios activos que contienen se ha llevado a cabo en aproximadamente 5% de estas especies (Oceguera *et al.*, 2005), lo que abre un amplio panorama para realizar estudios químicos, farmacológicos y biológicos de la diversa flora medicinal encontrada en las regiones del país.

El estado de Michoacán, es caracterizado por poseer una diversidad vegetal, debido a la variedad de suelos, climas y topografía que posee, situándose en el sexto lugar con mayor riqueza en biodiversidad en el país (Arizaga *et al.*, 2018). La riqueza de especies de la flora arbórea de Michoacán es sobresaliente al compararse con la encontrada en otros estados del país; en la tabla 2.1 y 2.1.1 se resumen las familias y géneros con mayor número de especies de árboles localizadas mayoritariamente en Morelia, seguido por Coalcomán y la Huacana, siendo también relevantes Aguililla y Huetamo (Cué-Bär *et al.*, 2006).

**Tabla 2.1.** Familias con mayor número de especies arbóreas en Michoacán.

Familia	Número de especies (género)
Asteraceae	82 (27)
Fabaceae	74 (26)
Minosaceae	67 (17)
Caesalpiniaceae	39 (9)
Burseraceae	38 (2)
Fagaceae	35 (1)
Euphorbiaceae	33 (14)
Rubiaceae	29 (15)
Boraginaceae	22 (5)
Cactaceae	23 (10)
Solanaceae	18 (3)
Moraceae	17 (7)
Pinaceae	17 (2)
Total	494 (138)

**Tabla 2.1.1.** Géneros con mayor número de especies arbóreas en Michoacán.

Género (familia)	Número de especies
<i>Bursera</i> (Burseraceae)	37
<i>Quercus</i> (Fagaceae)	35
<i>Lonchocarpus</i> (Fabaceae)	19
<i>Senna</i> (Caesalpiniaceae)	18
<i>Verbesina</i> (Asteraceae)	16
<i>Acacia</i> (Mimosaceae)	15
<i>Mimosa</i> (Mimosaceae)	15
<i>Pinus</i> (Pinaceae)	15
<i>Cordia</i> (Boraginaceae)	13
<i>Ficus</i> (Moraceae)	11
<i>Solanum</i> (Solanaceae)	11
<i>Randia</i> (Rubiaceae)	11
<i>Vernonia</i> (Asteraceae)	11
Total	227

## **2.1. Medicina tradicional en Huetamo, Michoacán**

El municipio de Huetamo, se localiza al sureste del estado a 280 metros sobre el nivel del mar, su clima es tropical y seco estepario con lluvias en verano; en el dominan los bosques tropicales espinosos (Enciclopedia de los Municipios y delegaciones de México, 2020). Su flora es muy variada, encontrándose una diversidad de formas vegetativas, sobre todo en tiempo de lluvias. Su población es mayoritariamente rural, por lo que el uso de plantas medicinales forma parte de la vida cotidiana de sus habitantes. Los conocimientos adquiridos sobre el uso de plantas en esta región es resultado de herencias familiares. Se hace uso de plantas medicinales para el tratamiento principalmente de diarrea, fiebre, vómito, heridas externas, inflamación por golpes e incluso para enfermedades crónicas como lo es el cáncer, la diabetes y la hipertensión. Las plantas que son usadas con frecuencia son obtenidas principalmente del campo, identificándose a través de sus partes aéreas (flores, hojas, frutos). Algunas de las especies vegetales medicinales que se ubican en la región de Huetamo pertenecen a los géneros *Diphysa* y *Randia*, que se ubican en las familias Fabaceae y Rubiaceae, respectivamente, y se distribuyen en la región de la Tierra Caliente.

## **2.2. Familia Fabaceae**

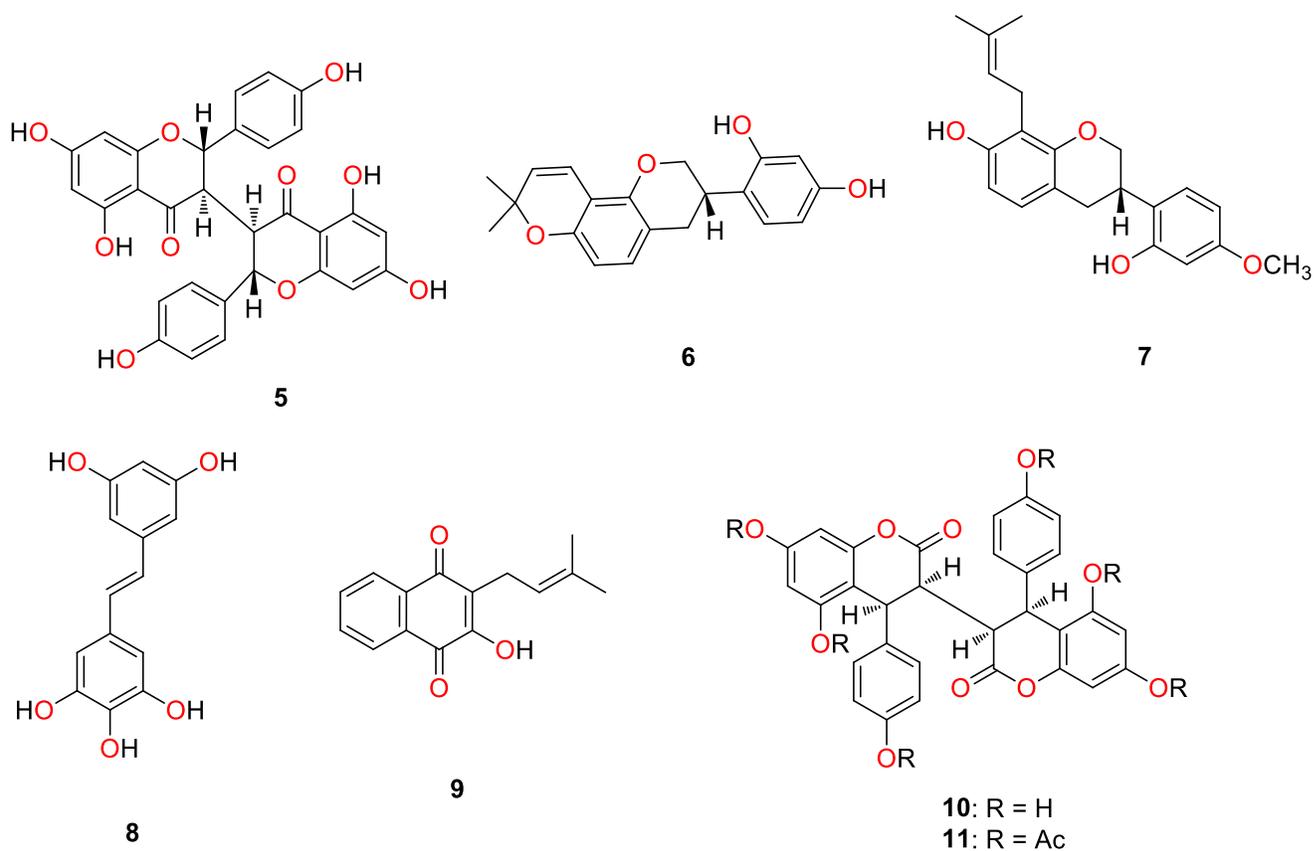
La familia Fabaceae, es una de las más numerosas entre las familias de plantas superiores, agrupando a distintos tipos de especies como árboles, arbustos, lianas y plantas herbáceas de extensa distribución mundial (Narváez, 2007), se considera el grupo más diversificado entre las plantas con flor, reconociéndose cerca de 770 géneros y 19,500 especies (Bruneau *et al.*, 2013, Dhillon, 2004), se caracterizan por su fruto en forma de vaina y sus hojas compuestas y estipuladas (Judd, 2002). Algunas especies ubicadas en esta familia tienen relevancia económica como alimento (por ejemplo, el chícharo, garbanzo, haba, lenteja, frijol y soya) (Aguilar *et al.*, 2021), también presentan importantes usos como forrajero, forestal, ornamental y medicinal, son aprovechadas para tratar enfermedades del aparato digestivo, respiratorio, urinario y tumores (Camargo-Ricalde *et al.*, 2001). De esta familia se han descrito compuestos que

incluyen alcaloides, flavonoides, triterpenoides, fenoles y estilbenos, con importancia biológica y farmacológica (Singh *et al.*, 2014). Dentro de esta familia se encuentra el género *Diphysa*, donde se ubica la especie *Diphysa minutifolia*, estudiada en el presente trabajo.

### 2.3. Género *Diphysa*

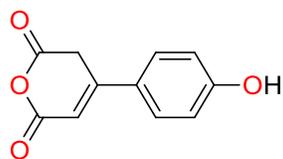
*Diphysa*, es un género con alrededor de 15 especies, distribuido desde el suroeste de Estados Unidos de América hasta el norte de Sudamérica, la mayor diversidad se encuentra en México, siendo la mayoría nativas del país (Rzedowski *et al.*, 2016).

Entre las especies más estudiadas se ubica *Diphysa robinoides* Bent, conocida comúnmente como “*Guachipelin*” o “*Palo amarillo*”, utilizada en medicina tradicional para el tratamiento de infecciones dermatomucosas, heridas, leishmaniasis y tiña; de esta planta aislaron los compuestos **5-9** (Castro & Valverde, 1985; Castro *et al.*, 1986; Sagrero-Nieves, 1986), difisina (**10**) y el derivado hexaacetilado **11** (Fig. 2.3.1); **10** mostró actividad contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* y *Pseudomonas aeruginosa* (Stermitz *et al.*, 1993). Cáceres y colaboradores, reportaron la actividad de la tintura de hojas de *D. robinoides* contra bacterias Gram positivas y negativas y su actividad antifúngica (Cáceres *et al.*, 1993).

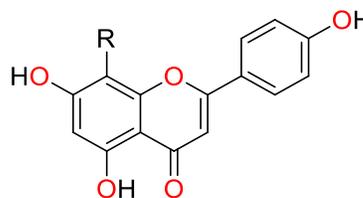


**Figura 2.3.1.** Metabolitos secundarios de *Diphysa robinoides*.

La especie *D. carthagenensis*, es utilizada en Yucatán para tratar abscesos en las glándulas mamarias, disentería, inflamación de ojos, como anticonvulsivo y para aliviar síntomas causados por parásitos protozoarios, así como infecciones por dermatofitos, sus hojas se usan para tratar el asma, tos, dolor de huesos y enfermedades venéreas; el extracto metanólico de hojas es activo frente a la evaluación leishmanicida *in vitro* (Peraza-Sánchez *et al.*, 2007); a partir del extracto de *n*-BuOH de hojas aislaron a diphysidiona (**12**) y vitexina (**13**) (Fig. 2.3.2) (Torres-Tapia *et al.*, 2013).



12



13: R = Glu

**Figura 2.3.2.** Compuestos aislados de *Diphysa carthagenensis*.

#### 2.4. *Diphysa minutifolia*

*Diphysa minutifolia* (Fig. 2.4.1), es un arbusto de 1-2 m de alto y crece principalmente en zonas con clima tropical húmedo-seco, su corteza es áspera color café oscuro, su floración es durante el mes de junio con flores pequeñas de color amarillo y fruto globoso rugoso con semillas color café (Jiménez *et al.*, 2000); es conocido comúnmente en Tierra Caliente como “*Shure*”. En 2005 realizaron el primer estudio de la actividad antibacteriana de esta planta, para avalar su actividad curativa. El análisis del extracto etanólico mostró actividad inhibitoria contra bacterias Gram positivas y Gram negativas y reportaron el estudio químico cualitativo, que sugirió la presencia de compuestos reductores, flavonoides, fenoles y taninos (Avellaneda *et al.*, 2005). González-Gómez y colaboradores realizaron la determinación de fenoles totales y taninos condensados en especies arbóreas con potencial forrajero de la Región de Tierra Caliente, Michoacán, destacando *Diphysa minutifolia* con un contenido total de 1.89% de taninos y 1.61% de fenoles (González-Gómez *et al.*, 2006). Los estudios que se han realizado de esta especie son principalmente por el uso en la medicina tradicional del estado de Guerrero, aquí la infusión de la corteza es útil para el tratamiento de la diarrea (Rojas *et al.*, 2010).



**Figura 2.4.1.** Partes aéreas de la planta *Diphysa minutifolia*.

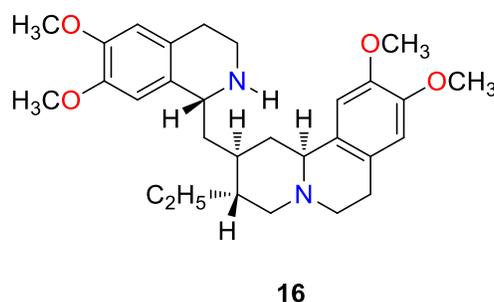
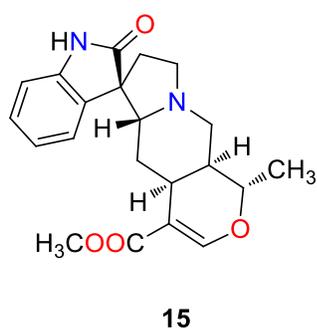
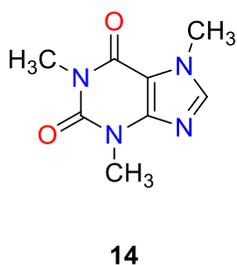
En Huetamo, Michoacán la corteza de *Diphysa minutifolia* es utilizada como macerado acuoso para tratar enfermedades crónicas como la hipertensión arterial y el cáncer, de lo cual no existe un estudio que avale el uso medicinal de esta planta, ni el reporte de su estudio químico.

## **2.5. Familia Rubiaceae**

La familia Rubiaceae, es considerada la cuarta más grande entre las fanerógamas, cuenta con alrededor de 637 géneros, 14,000 especies, 65 tribus y tres diferentes subfamilias (Wikström *et al.*, 2020), la mayoría de éstas se localizan en regiones tropicales y juegan un papel importante en la vegetación de zonas calientes (Borhidi & Diego-Pérez, 2002). Generalmente son árboles o arbustos, plantas erectas postradas o trepadoras, herbáceas o leñosas; esta familia posee especies de importancia económica, para la producción de tintes, sustancias con aplicaciones terapéuticas, productos comestibles o maderables (Pino-Benítez, 2016). Algunas de las plantas ubicadas en esta familia tienen uso generalizado en

la medicina tradicional, con efectos antiinflamatorios, analgésicos, antibacterianos, antivirales, antioxidantes, en enfermedades vasculares, así como actividades sobre el sistema nervioso central (Heitzman *et al.*, 2005).

De especies de Rubiaceae se han descrito productos con una diversidad estructural que han demostrado tener actividades farmacológicas importantes (Viegas *et al.*, 2006), lo que ha demostrado que es una fuente prometedora de sustancias bioactivas, siendo los iridoides, antraquinonas, triterpenos y alcaloides, los principales metabolitos secundarios distribuidos en la familia (Martins & Nunez, 2015). Algunas de las especies relevantes en esta familia son, *Coffea arabica* (café), de importancia económica, que tiene como componente químico principal la cafeína (**14**) (Simões *et al.*, 2004); *Uncaria tomentosa* de la cual recientemente se realizó un estudio *in silico* de 26 componentes de esta especie, entre los que destaca uncarina F (**15**), aquí se sugiere la potencial eficacia de esta planta como medicina complementaria o alternativa para el tratamiento de COVID-19 (Yepes-Pérez *et al.*, 2020) y por último *Cephaelis ipecacuana*, fuente importante de emetina (**16**), alcaloide con efectos eméticos, antihelmínticos y expectorantes (Yoshimatsu *et al.*, 2003).

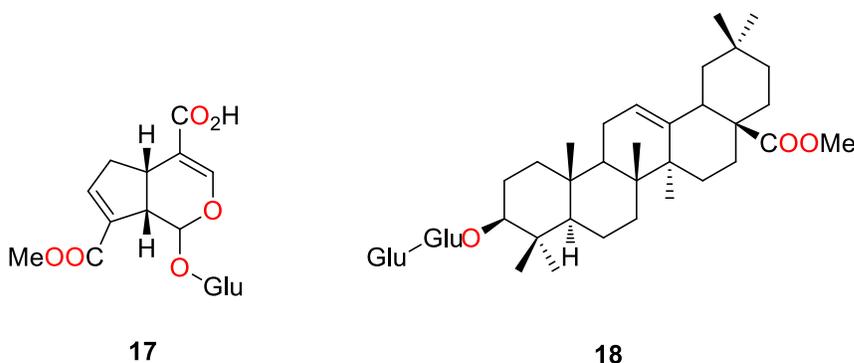


**Figura 2.5.1.** Componentes químicos de *Coffea arabica*, *Uncaria tomentosa* y *Cephaelis ipecacuana*.

## 2.6. Género *Randia*

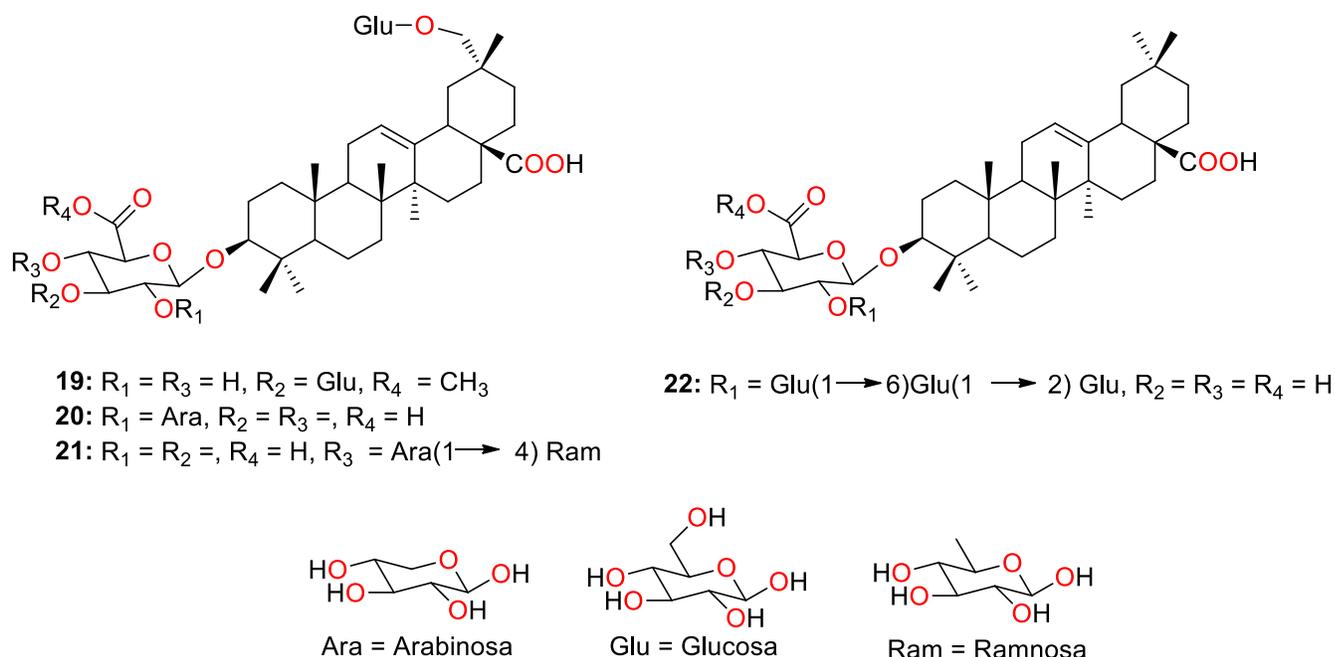
El género *Randia*, pertenece a la familia Rubiaceae, está constituido por aproximadamente 90 especies, se encuentra distribuido en regiones tropicales y subtropicales (Judkevich *et al.*, 2015). Se presentan como árboles, arbustos o hierbas, con tallos con espinas rectas o curvas o sin espinas, hojas opuestas o verticiladas, inflorescencias terminales o axilares, flores bisexuales o unisexuales de color blanco o amarillo que suelen tener olor agradable, fruto abayado, que suele tener cubierta espiniforme, semillas comprimidas, envueltas en una pulpa frecuentemente negra (Borhidi & Diego-Pérez, 2008). México alberga alrededor de 47 especies (Borhidi *et al.*, 2007), algunas de ellas han sido objeto de estudios científicos, debido a su uso en la medicina tradicional (Bye *et al.*, 1991).

De las especies de importancia en la herbolaria medicinal es *Randia dumetorum*, árbol ayurvédico, utilizado como agente emético y antidisentérico. Del análisis químico de sus hojas aislaron al iridoide glicosilado **17** (Sati *et al.*, 1986), mientras que del extracto metanólico de fruto aislaron la randianina (**18**) (Fig. 2.6.1) (Sotheeswaran *et al.*, 1989) que exhibió un efecto citotóxico *in vitro* en la línea celular de melanoma humano SK-MEL-2 (Jangwan & Singh, 2014). *R. dumetorum* es utilizada para el tratamiento de enfermedades del hígado, por lo que evaluaron la actividad antioxidante y hepatoprotectora de los extractos metanólicos de hoja y corteza, con lo que se validó científicamente su uso (Kandimalla *et al.*, 2016).



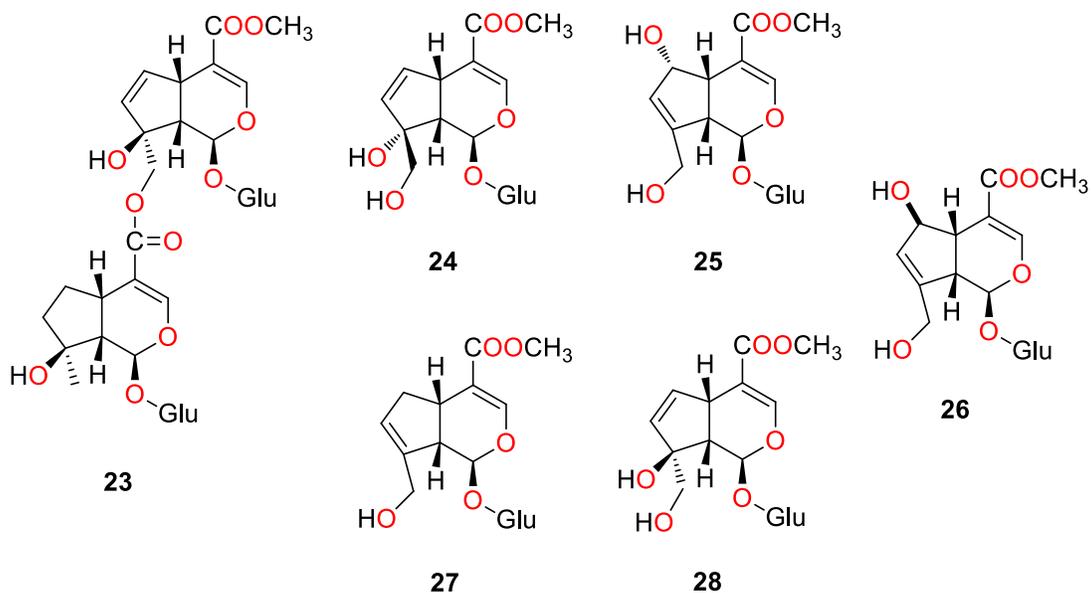
**Figura 2.6.1.** Compuestos aislados de *Randia dumetorum*.

*Randia siamensis* es utilizada en la medicina tradicional de Tailandia; sus frutos se utilizan para inducir el aborto, mientras que sus hojas controlan la presión arterial, la raíz tiene actividad antipirética, antiescorbuto, y las flores tienen utilidad para tratar hemorragias nasales. Del fraccionamiento del extracto *n*-butanólico de fruto aislaron los pseudoginsenosidos RT2, RT3, RT4 y RT5 (**19-22**) (Fig. 2.6.2) (Khwancheua *et al.*, 2008).



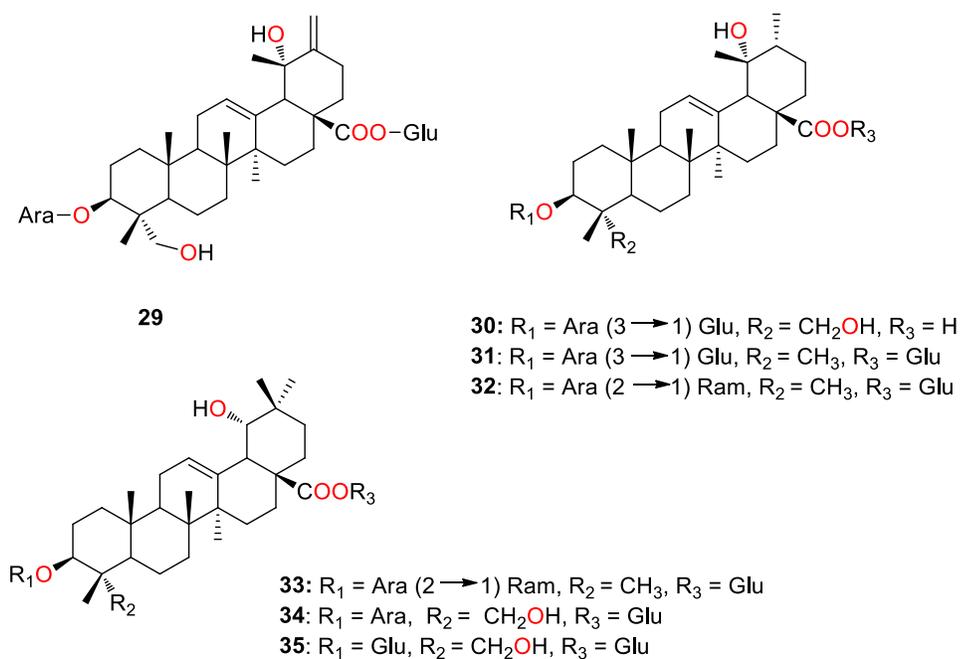
**Figura 2.6.2.** Pseudoginsenosidos aislados del fruto fresco de *Randia siamensis*.

Diferentes partes como fruto, flores, corteza y raíz de *Randia spinosa*, son utilizadas para el tratamiento de artritis reumatoide, dolor, antiinflamatorio, expectorante, antidepresivo, piel, gastrointestinales y mordeduras de serpientes (Agre *et al.*, 2021). De la fracción acuosa del extracto etanólico de tallos, aislaron el randinósido (**23**), galiósido (**24**), éster metílico del ácido desacetilasperulosídico (**25**), éster metílico de escandósido (**26**), genipósido (**27**) y gardenósido (**28**) (Fig. 2.6.3) (Hamerski *et al.*, 2003). Mediante ensayos *in vitro* e *in silico* demostraron que los componentes del extracto metanólico de hojas de *R. spinosa* exhiben actividades antibacterianas y antiinflamatorias (Mahabaleswara *et al.*, 2017), lo cual puede atribuirse a los compuestos aislados.



**Figura 2.6.3.** Iridoides glicosilados de *Randia spinosa*.

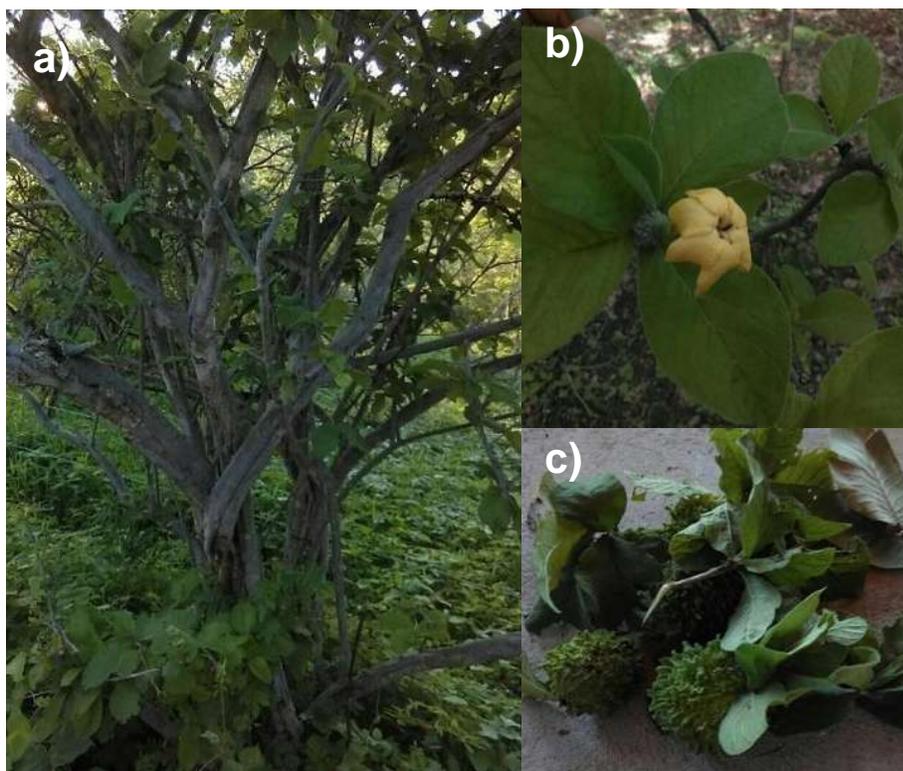
Del análisis químico del extracto metanólico de hojas de *Randia formosa* aislaron las saponinas triterpenoides con esqueleto de ursano y oleanano, denominadas randiasaponinas I-VII (**29-35**) (Fig. 2.6.4) (Sahpaz *et al.*, 2000).



**Figura 2.6.4.** Randiasaponinas aisladas de *Randia formosa*.

## 2.7. *Randia echinocarpa*

*Randia echinocarpa* (Fig. 2.7.1), es un arbusto de 2-3 m de altura con ramas rígidas grisáceas, hojas sésiles ovadas, flores unisexuales, terminales, solitarias o agrupadas, frutos verdes o amarillos subglobosos y semillas numerosas, pardas, rodeadas por una pulpa oscura al madurar. Es considerada endémica de México (Borhidi, 2012) (Bye *et al.*, 1991), distribuida en regiones tropicales y subtropicales; es una planta medicinal poco conocida, pero importante por su uso en la medicina tradicional del país. Es conocida comúnmente como “*Granjel*” en el centro de México (Bye & Linares, 1983), “*Chacua*” en el centro-oeste de México y como “*Papache*” en el norte del país (Martínez, 1979).

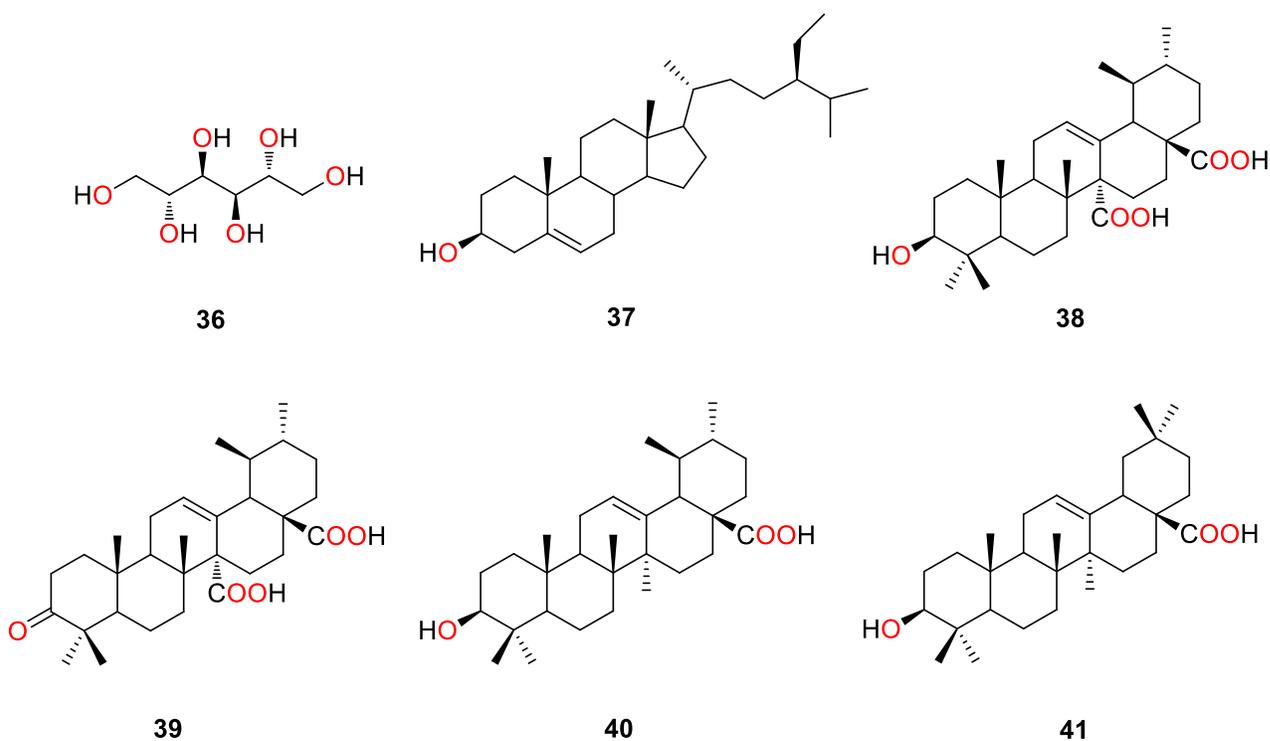


**Figura 2.7.1.** a) Arbusto, b) flor y c) fruto de *Randia echinocarpa*.

Existen reportes del uso de esta planta en la medicina tradicional principalmente del fruto, por ejemplo, se emplea para el tratamiento de una amplia variedad de trastornos urinarios, y se reporta que tiene actividad diurética.

También se ha descrito que actúa como agente urolitiásico en ratas (Vargas & Pérez, 2002); se recomienda su uso para enfermedades pulmonares y circulatorias, así como para el tratamiento de diabetes, cáncer, malaria y úlceras pépticas; este mostró actividad antioxidante y antimutagénica, lo que permitió respaldar su uso como agente anticanceroso (Santos-Cervantes *et al.*, 2007). La actividad antimutagénica, se atribuyó a su contenido de ácido linoléico, palmítico y  $\beta$ -sitosterol (Cano-Campos *et al.*, 2011). A partir de la pulpa del fruto se han aislado melaninas solubles que inhiben la actividad de la  $\alpha$ -glucosidasa (Cuevas-Juárez *et al.*, 2014).

A partir del análisis químico del extracto metanólico de los frutos secos de esta planta aislaron el manitol (**36**),  $\beta$ -sitosterol (**37**), y ácidos quinovico (**38**), oxoquinovico (**39**), ursólico (**40**) y oleanólico (**41**) (Fig. 2.7.2) (Bye *et al.*, 1991).



**Figura 2.7.2.** Compuestos aislados de *Randia echinocarpa*.

En el municipio de Huetamo, Michoacán, es común recurrir a las plantas medicinales para tratar diversas enfermedades; en esta población la corteza de *Diphysa minutofilia* es útil para tratar enfermedades crónicas como la hipertensión arterial y el cáncer, y el fruto de *Randia echinocarpa* es útil para el tratamiento de cáncer de próstata. En el presente trabajo se reporta el análisis químico de los extractos polares obtenidos de estas plantas, que permitió aislar los metabolitos secundarios mayoritarios, con lo que se está contribuyendo con el conocimiento fitoquímico de las especies.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

El descubrimiento de metabolitos de origen natural juega un papel importante en la ciencia, debido al interés químico y biológico que se tiene sobre éstos. Es por ello que la investigación de plantas con usos medicinales permite descubrir y caracterizar estructuras novedosas que puedan tener potencial biológico. De ahí el interés por explorar especies vegetales con usos medicinales de Tierra Caliente del estado de Michoacán, contribuyendo al conocimiento químico de especies ubicadas en nuestro país.

#### 4. OBJETIVO GENERAL

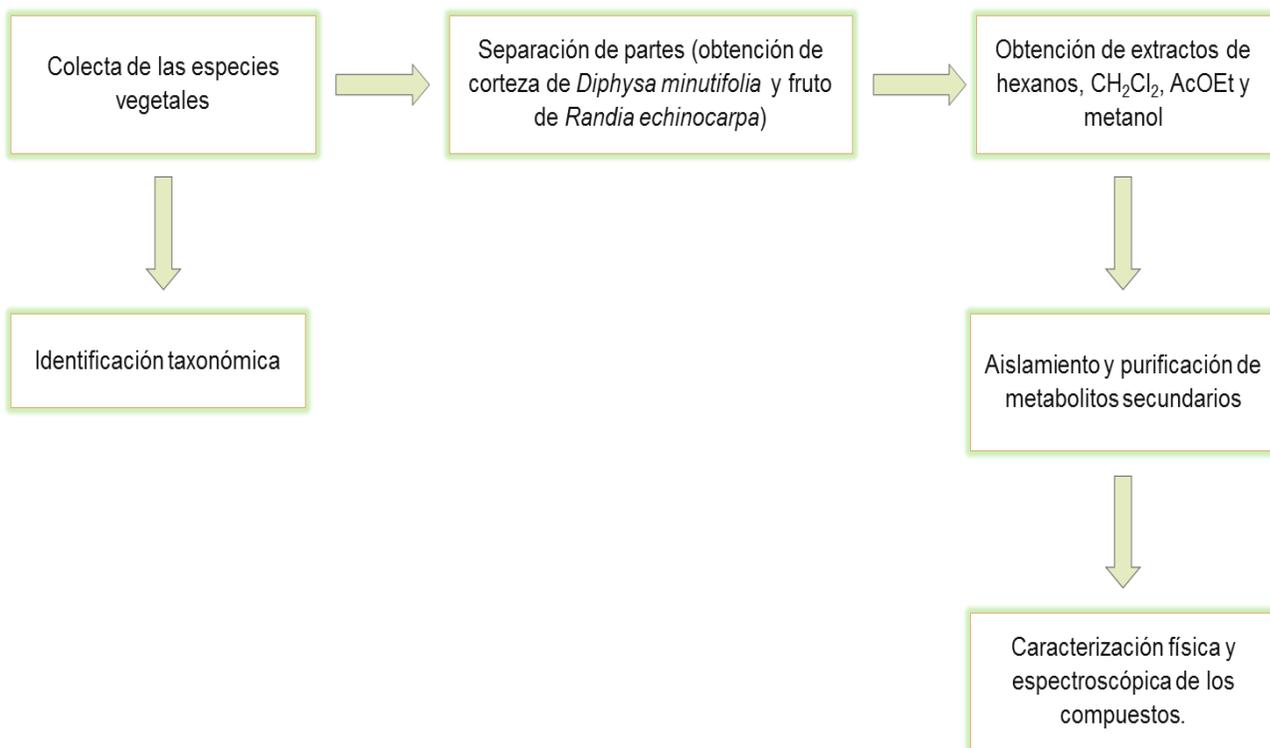
Realizar el estudio químico de las especies *Diphysa minutifolia* y *Randia echinocarpa* de la región de Huetamo, Michoacán, mediante técnicas cromatográficas, para aislar e identificar los metabolitos secundarios mayoritarios.

##### 4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener los extractos de polaridad ascendente de corteza de *Diphysa minutifolia* y fruto de *Randia echinocarpa*.
- Aislar los metabolitos secundarios mayoritarios.
- Caracterizar los compuestos mediante sus datos físicos, químicos y espectroscópicos.

## 5. METODOLOGÍA GENERAL

La metodología utilizada para la realización del presente proyecto se resume en el esquema (5.1).

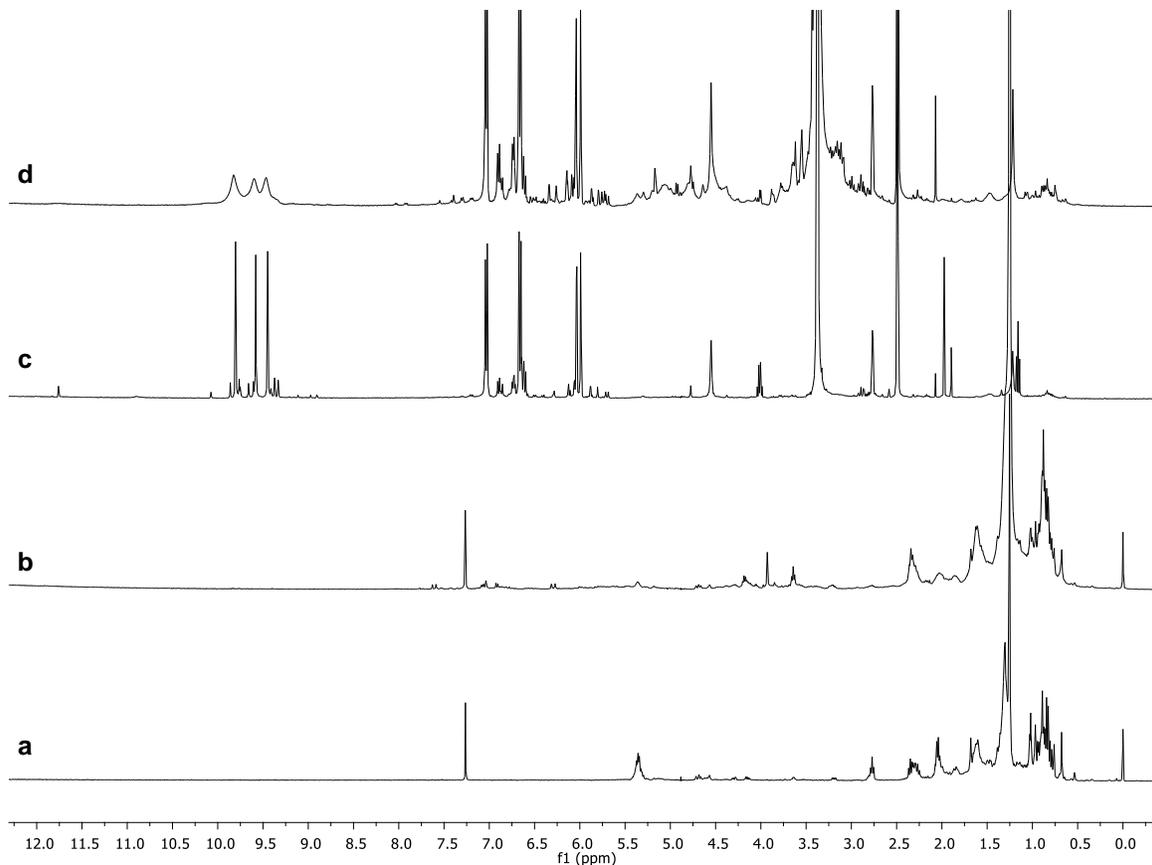


**Esquema 5.1.** Metodología general utilizada para el desarrollo del proyecto.

## 6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 6.1. Análisis de extractos de corteza de *Diphysa minutifolia* mediante RMN de $^1\text{H}$

Los extractos de la planta se obtuvieron mediante maceración a temperatura ambiente, empleando como disolventes hexanos,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , AcOEt y MeOH de manera secuenciada. Cada extracto se analizó mediante resonancia magnética nuclear de protón para determinar la naturaleza y abundancia química de los componentes. El espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del extracto hexánico (Fig. 6.1.1a) mostró en 5.40 ppm una señal múltiple de hidrógenos vinílicos característicos de ácidos grasos insaturados, así como señales de protones base de heteroátomo entre 4.70 y 3.17 ppm y señales de protones alifáticos (2.75-0.66 ppm), lo que sugirió la presencia mayoritaria de triglicéridos y ácidos grasos, típicos de especies de la familia Fabaceae (Pamatz-Bolaños *et al.*, 2018). En el espectro del extracto de diclorometano (Fig. 6.1.1b), se observaron señales de hidrógenos aromáticos entre 7.60 y 6.30 ppm, así como en la región de protones base de heteroátomo de 4.70 a 3.20 ppm, además señales de hidrógenos alifáticos (entre 2.50 y 0.65 ppm). En el espectro de  $^1\text{H}$  del extracto de acetato de etilo (Fig. 6.1.1c) y metanólico (Fig. 6.1.1d) se apreciaron señales simples de hidrógenos fenólicos entre 9.85 y 9.45 ppm, así como señales de compuestos aromáticos *p*-disustituídos entre 7.50 y 6.10 ppm. El espectro del extracto de AcOEt (Fig. 6.1.1c) también mostró una señal simple en 11.74 ppm característica de un puente de hidrógeno y señales en la región de protones alifáticos (2.90-0.80 ppm) y por último en el espectro del extracto metanólico (Fig. 6.1.1d) también se observaron señales en el área de hidrógenos vinílicos (5.20-4.55 ppm) y base de heteroátomo (4.20-3.00 ppm).



**Figura 6.1.1.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  obtenidos de la corteza de *Diphysa minutifolia*: a) hexánico en  $\text{CDCl}_3$ , b)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  en  $\text{CDCl}_3$ , c) AcOEt en  $\text{DMSO-}d_6$  y d) MeOH en  $\text{DMSO-}d_6$ .

Del análisis anterior, se concluyó que la abundancia de compuestos en los extractos de hexanos y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  era mayoritariamente ácidos grasos, mientras que los extractos de mayor polaridad contenían compuestos aromáticos; por lo que decidió realizar el estudio químico de los extractos de AcOEt y MeOH.

## 6.2. Estudio químico del extracto de AcOEt de la corteza de *Diphysa minutifolia*

El extracto de AcOEt (9 g) se sometió a separación en columna cromatográfica y se obtuvieron 230 fracciones de 25 y 50 mL, utilizando mezclas de disolventes hexanos-AcOEt y hexanos-AcOEt-MeOH en polaridad ascendente. En las fracciones 137-149 (polaridad 50:50:1 hexanos-AcOEt-MeOH), 150-171 (polaridad 2:3 hexanos-AcOEt) y 172-179 (polaridad 3:7 hexanos-AcOEt) se obtuvieron 343 mg (4%) de un sólido café (pf = 230-234 °C), soluble en metanol, DMSO y agua. En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 6.2.1) se apreció una señal simple en 11.84 ppm de un grupo fenólico (OH-5) formando un puente de hidrógeno con el carbonilo C-4; en 6.86 y 6.72 ppm aparecieron dos señales dobles con una  $J = 8.5$  Hz de un sistema aromático *p*-disustituido de H-2',6' y H-3',5' respectivamente; en 5.88 y 5.80 ppm se observaron dos señales dobles con acoplamiento *meta* y una  $J = 2.1$  Hz asignadas a los protones H-8 y H-6; en 5.70 ppm se apreció una señal doble con  $J = 12.0$  Hz asignada al protón H-2, por último, en 2.80 ppm se ubicó una señal doble con  $J = 12.0$  Hz asignada al protón H-3.

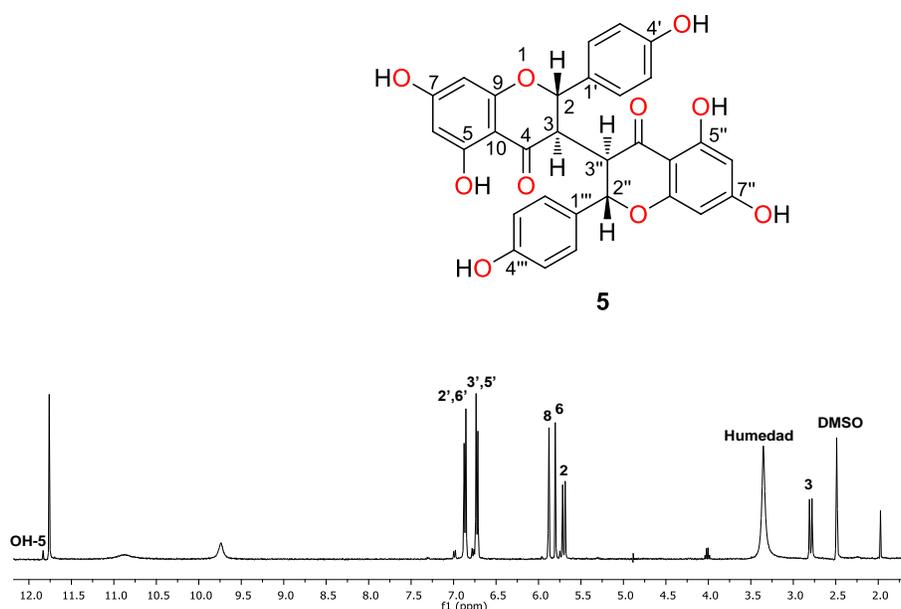
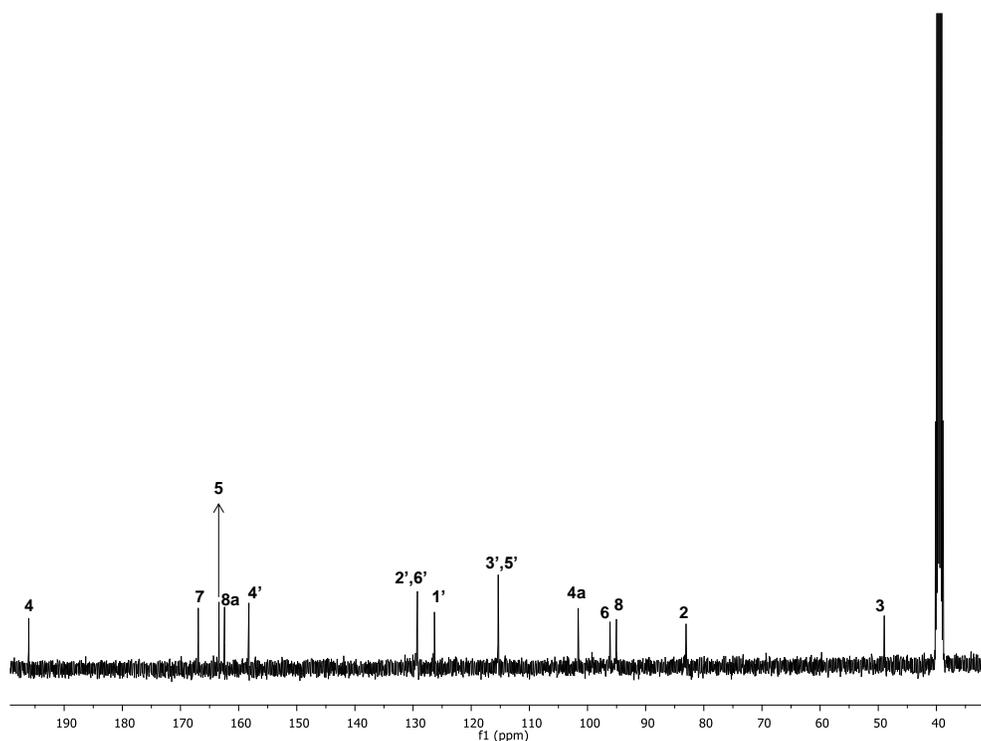


Figura 6.2.1. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz en DMSO- $d_6$  de 5.

El espectro de  $^{13}\text{C}$  (Fig.6.2.2) mostró en 196.1 ppm la señal de carbono de carbonilo C-4; entre 166.9 y 48.9 ppm se encontraron el resto de las señales del anillo A, B y C de la biflavanona (ver tabla 6.2.1). Los datos se compararon con lo reportado en la bibliografía (Chukwujekwu *et al.*, 2012; Niwa *et al.*, 1986), correspondiendo al compuesto 5,7,4',5'',7'',4''-hexahidroxi-(3,3'')-biflavanona o también conocido como chamaejasmina (**5**). El valor de la constante de acoplamiento confirma la geometría *trans-trans* en las posiciones C-2/C-3 y C-2''/C-3''. De **5** existen reportes de su actividad antiinflamatoria y su citotoxicidad contra las células de adenocarcinoma de cuello uterino HeLa (Qian & Li, 2017); su configuración absoluta la establecieron como (2*S*,3*R*,2''*S*,3''*R*), mediante DCE (Chalo *et al.*, 2020), este compuesto ha sido aislado de *Diphysa robinoides* (Castro & Valverde, 1985), *Ormocarpum kirkii* (Xu *et al.*, 2012) y *Ormocarpum trichocarpum* (Chukwujekwu *et al.*, 2012).

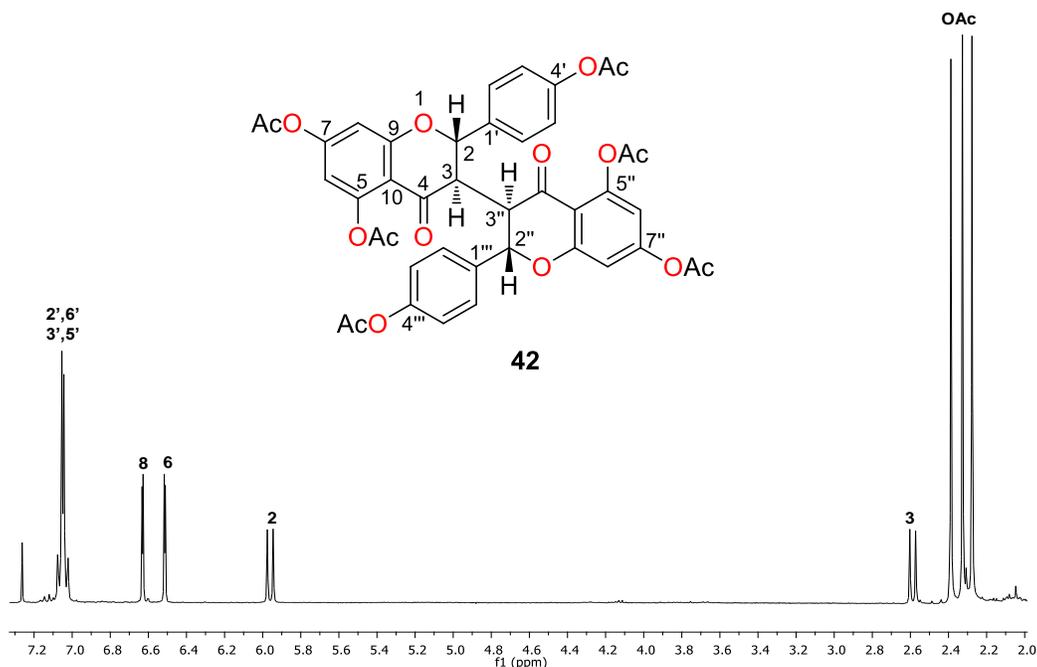


**Figura 6.2.2.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz en  $\text{DMSO-}d_6$  de **5**.

**Tabla 6.2.1.** Datos experimentales de  $\delta$  (ppm) de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del compuesto **5**.

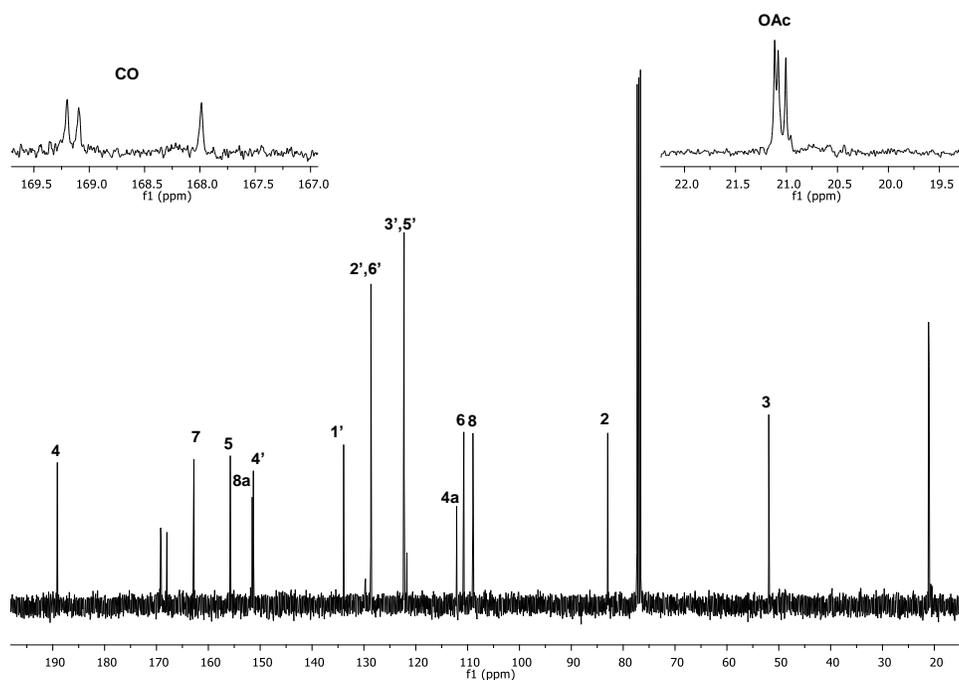
C/H	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ , multiplicidad, $J$ (Hz)
2	83.0	5.70 d, (12.0)
3	48.9	2.80 d, (12.0)
4	196.1	-----
4a	101.6	-----
5	163.4	-----
6	96.1	5.80 d, (2.1)
7	166.9	-----
8	95.0	5.88 d, (2.1)
8a	162.4	-----
1'	126.3	-----
2',6'	129.2	6.86 d (8.5)
3',5'	115.3	6.72 d (8.5)
4'	158.2	-----
OH-5	-----	11.84 s

Para corroborar los hidroxilos presentes en el compuesto **5**, se llevó a cabo una reacción de peracetilación con anhídrido acético y piridina. El producto de la reacción se purificó mediante cromatografía en columna; se obtuvo como un sólido de color blanco (pf = 115-120 °C), en un rendimiento del 26%, soluble en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y  $\text{CHCl}_3$ . En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 6.2.3) se ubicó en 7.04 ppm una señal múltiple de los protones del sistema aromático *p*-disustituido, también se observó el corrimiento de las señales dobles ( $J = 2.2$  Hz) de los hidrógenos 8 y 6 (6.63 y 6.51 ppm) y entre 2.39-2.28 ppm se observaron tres señales simples intensas que integraron para 6 hidrógenos cada una, indicando el traslape de seis metilos de acetilo.



**Figura 6.2.3.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de **42**.

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Fig.6.2.4) se observó la señal del carbono de carbonilo (C-4), así mismo se apreciaron las señales de los carbonilos de acetato en 169.2, 169.1 y 168.0 ppm y los metilos de acetato en 21.1, 21.0 y 21.0 ppm; el resto de las señales se ubicaron entre 162.7-51.9 ppm (ver tabla 6.2.2). Estos datos correspondieron con el derivado 5,7,4',5'',7'',4''-hexaacetoxi-(3,3'')-biflavanona, también denominado como hexaacetato de chamaejasmina (**42**) (Castro & Valverde, 1985).

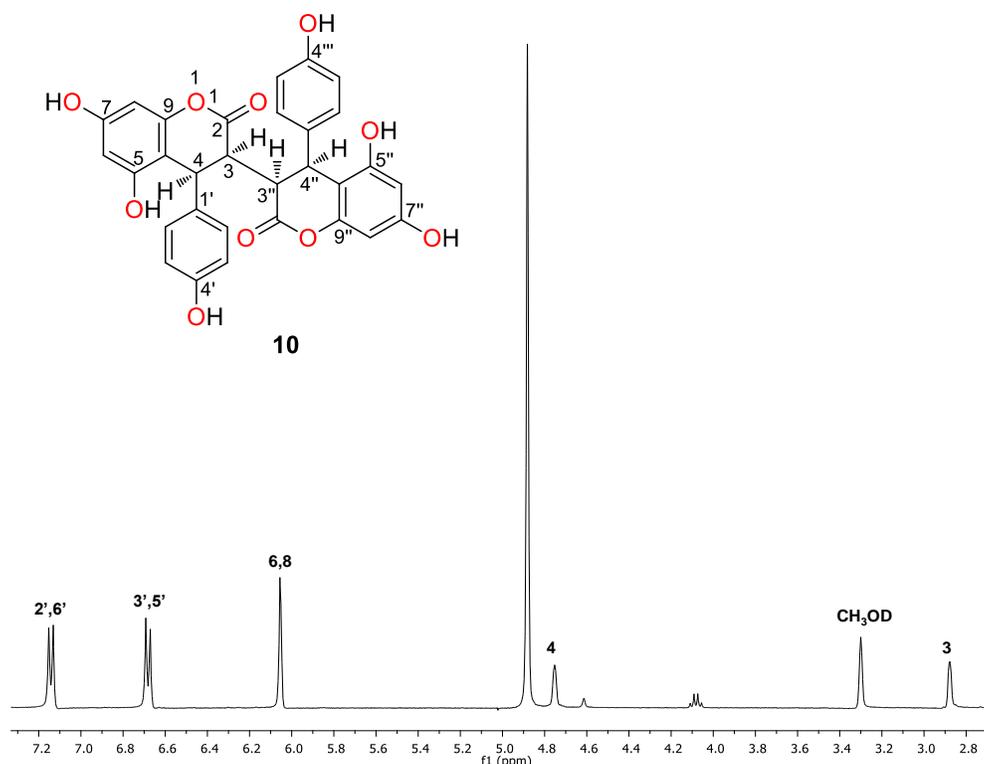


**Figura 6.2.4.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de **42**.

**Tabla 6.2.2.** Datos experimentales de  $\delta$  (ppm) de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del derivado **42**.

C/H	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ , multiplicidad, $J$ (Hz)
2	82.9	5.96 d, (12.0)
3	51.9	2.59 d, (12.0)
4	189.1	-----
4 <sup>a</sup>	112.1	-----
5	155.7	-----
6	110.7	6.51 d, (2.2)
7	162.7	-----
8	108.9	6.63 d, (2.2)
8 <sup>a</sup>	151.5	-----
1'	133.9	-----
2',6'	128.6	-----
3',5'	122.2	7.04 m
4'	151.3	-----
MeCO	169.2, 169.2, 168.0	
MeCO	21.1, 21.0, 21.0	2.39, 2.33, 2.28

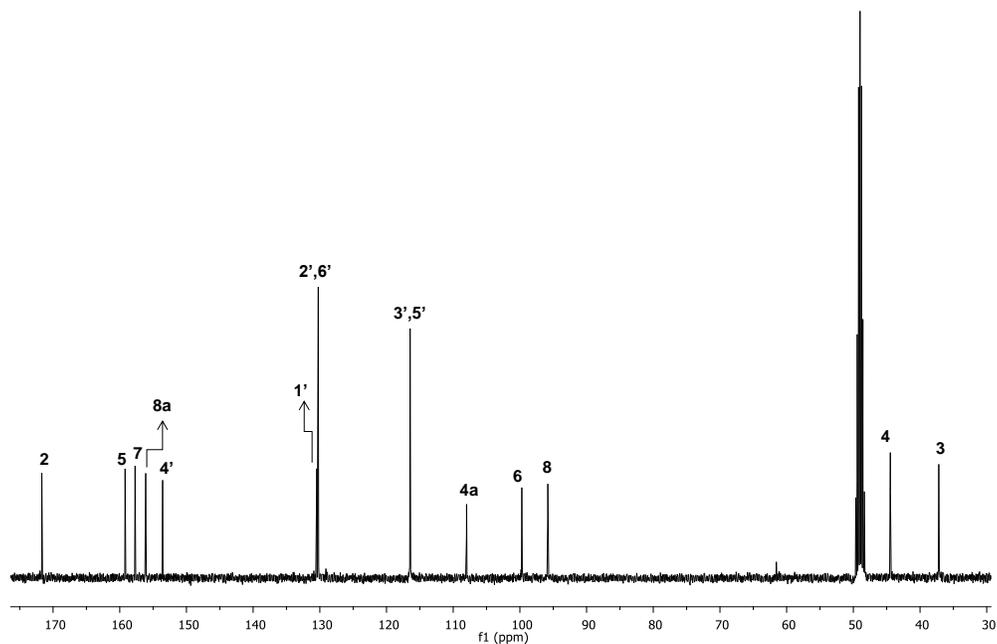
Seguindo con el análisis de los compuestos presentes en el extracto de AcOEt de la corteza de *D. minutifolia*, en las fracciones 193-195 (polaridad 3:7 hexanos-AcOEt), 196-210 (polaridad 1:4 hexanos-AcOEt) y 211-229 (polaridad 1:9 hexanos-AcOEt) se obtuvieron 4 g (44.4%) de cristales amorfos de color salmón con un punto de fusión mayor a 300 °C, solubles en acetona, metanol, DMSO y agua. En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 6.2.5), se apreciaron dos señales dobles en 7.09 y 6.63 ppm con  $J = 8.6$  Hz, de los protones aromáticos H-2',6' y H-3',5', respectivamente, de un anillo *p*-disustituido; en 6.00 ppm se ubicó una señal doble que integró para dos protones asignada a los hidrógenos H-6 y H-8, por último, en 4.70 y 2.82 ppm se observaron dos señales simples anchas asignadas a H-4 y H-3, respectivamente.



**Figura 6.2.5.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz en  $\text{CD}_3\text{OD}$  de difisina (10).

El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Fig. 6.2.6) mostró en 171.7 ppm la señal característica del carbonilo C-2, así mismo entre 159.2-95.8 ppm se observaron las señales de los carbonos  $sp^2$  y en 44.4 y 37.2 ppm los carbonos metínicos C-4

y C-3 del anillo de la piranona. Los datos de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se compararon con la literatura (Stermitz *et al.*, 1993) (Tabla 6.2.3), correspondiendo al compuesto 3,4-dihidro-4(4'-hidroxifenil)-5,7-dihidroxi-(3,3'')-bicumarina, conocido como difisina (**10**), aislada por primera vez de *Diphysa robinoides*, que mostró actividad contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*; también ha sido aislado de *Ormocarpum trichocarpum* (Chukwujekwu *et al.*, 2012) y *Ormocarpum kirkii* (Adem *et al.*, 2019). En el reporte de los constituyentes químicos de *Ormocarpum sennoides*, establecieron la configuración absoluta de **10** como, (3*R*,4*S*,3'*R*,4'*S*)-Difisina mediante DCE (Chalo *et al.*, 2020). Este tipo de compuestos al ser de naturaleza fenólica suelen tener propiedades antioxidantes, lo cual puede relacionarse con el uso que se le da a la corteza de *Diphysa minutifolia* en la medicina tradicional de Huetamo.

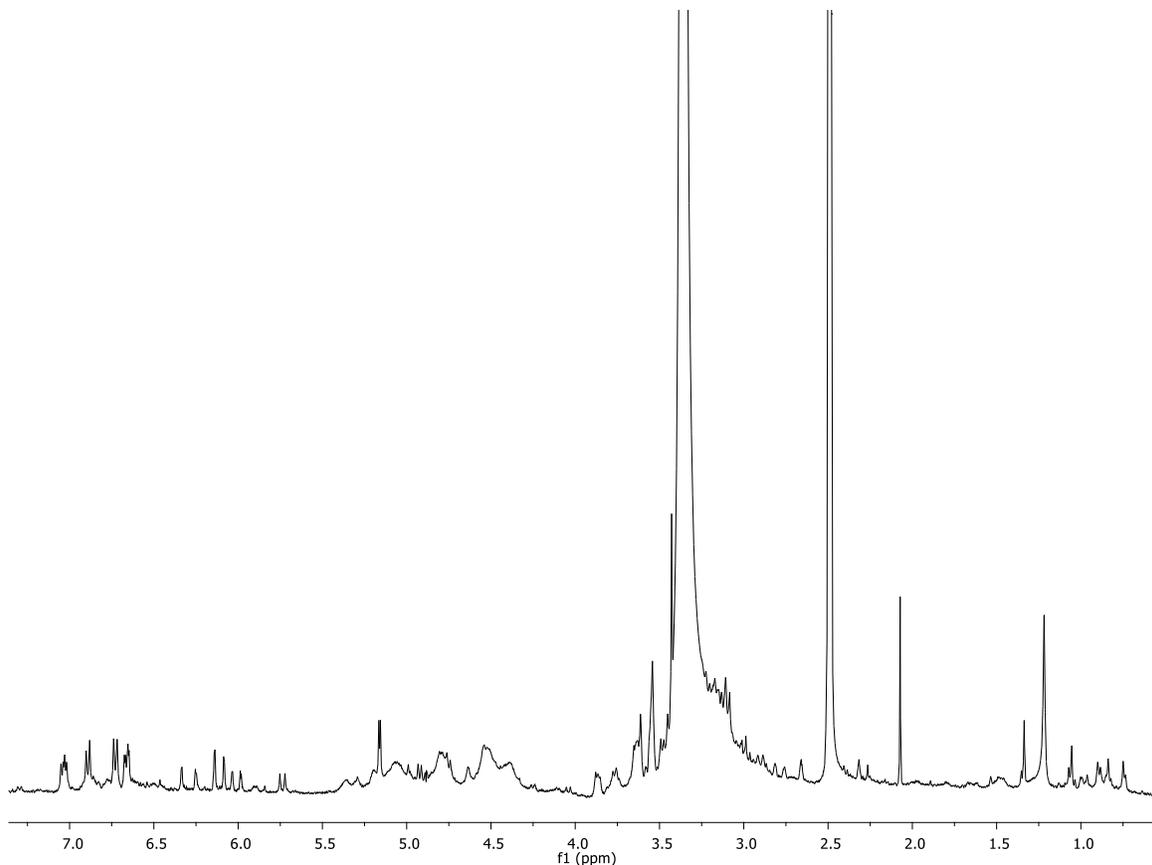


**Figura 6.2.6.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz en  $\text{CD}_3\text{OD}$  de **10**.

**Tabla 6.2.3.** Comparación de los datos de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de difisina (Stermitz *et al.*, 1993) y datos experimentales de **10**.

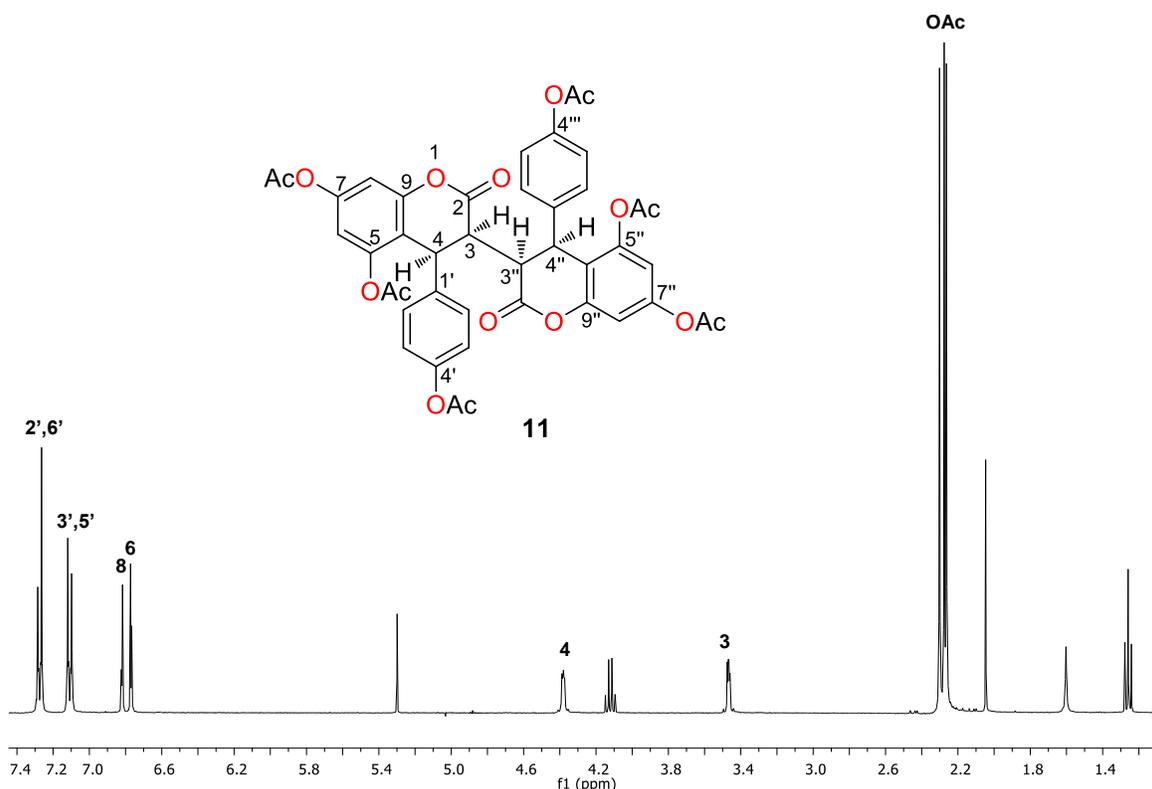
C/H	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ , multiplicidad, $J$ (Hz)	$^{13}\text{C}$ - Exp.	$^1\text{H}$ , multiplicidad, $J$ (Hz)- Exp.
2	171.7	-----	171.7	-----
3	37.1	2.83 m	37.2	2.82 sa
4	44.4	4.66 m	44.4	4.70 sa
4 <sup>a</sup>	108.0	-----	108.0	-----
5	159.1	-----	159.2	-----
6	99.7	5.98 d (2.3)	99.7	6.00 d (1.6)
7	157.6	-----	157.7	-----
8	95.8	5.98 d (2.3)	95.8	6.00 d (1.6)
8 <sup>a</sup>	156.0	-----	156.1	-----
1'	130.4	-----	130.4	-----
2',6'	130.2	7.09 d (8.7)	130.2	7.09 d (8.6)
3',5'	116.4	6.60 d (8.7)	116.4	6.63 d (8.6)
4'	156.0	-----	154.0	-----

En el extracto de AcOEt de corteza de *D. minutifolia* precipitó un sólido color café, el cual fue separado y analizado. En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 6.2.7) se observaron principalmente señales de compuestos aromáticos entre 7.05 y 6.00 ppm, así como señales de protones vinílicos (5.75-4.30 ppm) y base de heteroátomo (3.88-3.00 ppm). En el intento de obtener uno de los componentes de la mezcla se realizó el proceso de re-cristalización por evaporación lenta de disolvente; sin embargo, no se logró obtener un buen resultado, por lo que se optó por realizar una reacción de peracetilación con anhídrido acético y piridina.



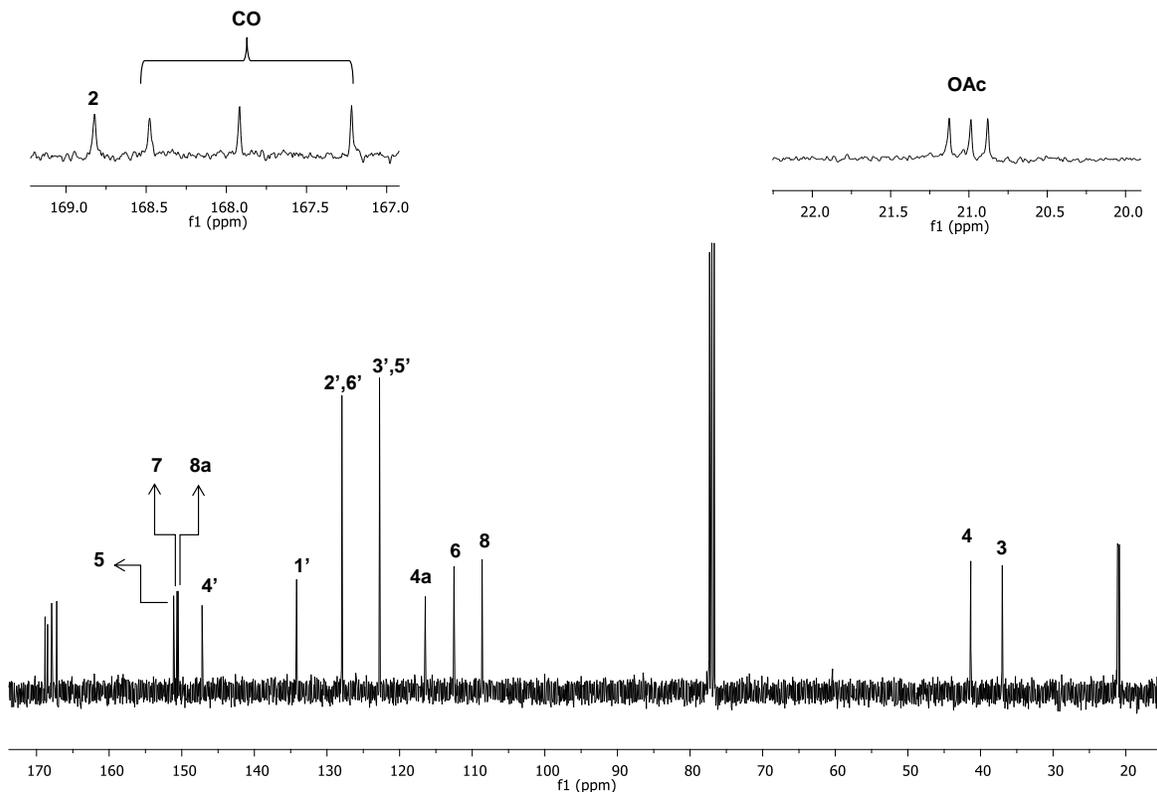
**Figura 6.2.7.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz en  $\text{DMSO-}d_6$  del precipitado obtenido del extracto de AcOEt de corteza de *D. minutifolia*.

En el crudo de la reacción, se observó la formación de cristales en forma de prisma, éstos se decantaron y se lavaron con hexanos y AcOEt, obteniéndose 230 mg (31%) de cristales incoloros (pf = 170-172 °C) solubles en diclorometano, cloroformo y acetonitrilo. En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 6.2.8) se observaron las señales características del sistema aromático *p*-disustituido (7.27-7.11 ppm), así mismo en 6.82 y 6.77 ppm se ubicaron las señales de los protones aromáticos 8 y 6 del anillo A de la coumarina; en 2.30, 2.28 y 2.26 ppm se apreciaron señales simples intensas que integran para seis protones cada una, de los metilos de acetilo, lo que indicó que se llevó a cabo la acetilación de seis grupos OH.



**Figura 6.2.8.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  del hexaacetato de difisina (**11**).

El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Fig. 6.2.9) mostró en 168.8 ppm la señal del carbonilo de la piranona C-2, así mismo en 168.5, 167.9 y 167.2 ppm las señales de los carbonilos de los acetatos y en 21.1, 21.0 y 20.8 ppm las señales de los carbonos metílicos de los grupos acetilo; el resto de las señales se describen en la tabla 6.2.2. Los datos experimentales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  fueron comparados con la literatura (Tabla 6.2.4) (Stermitz *et al.*, 1993) y concordaron para el 3,4-dihidro-4(4'-acetoxifenil)-5,7-diacetoxi-(3,3'')-bicumarina o hexaacetato de difisina (**11**) que al ser un compuesto dimérico en RMN se observaron sólo las señales correspondientes al monómero, ya que se trata de una molécula con átomos equivalentes.



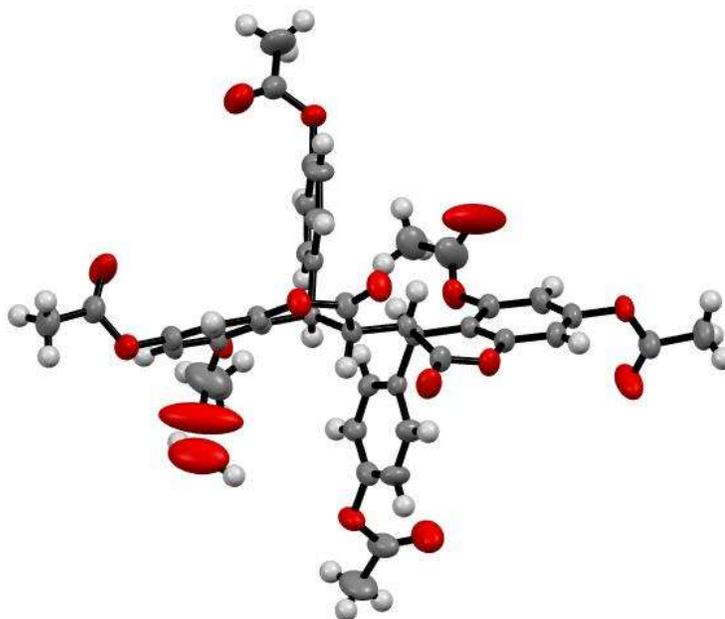
**Figura 6.2.9.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$  del hexaacetato de difisina (**11**).

**Tabla 6.2.4.** Comparación de los datos de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del derivado hexaacetilado de difisina (Stermitz *et al.*, 1993) y datos experimentales de **11**.

C/H	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ , multiplicidad, $J$ (Hz)	$^{13}\text{C}$ - Exp.	$^1\text{H}$ , multiplicidad, $J$ (Hz)- Exp.
2	169.1	-----	168.8	-----
3	37.0	3.47 m	37.0	3.44 dd (3.5, 2.0)
4	41.3	4.39 m	41.3	4.38 dd (3.5, 2.0)
4 <sup>a</sup>	116.4	-----	116.4	-----
5	151.1	-----	151.1	-----

6	112.5	6.77 d (2.2)	112.5	6.77 d (2.2)
7	150.6	-----	150.6	-----
8	108.6	6.82 d (2.2)	108.6	6.82 d (2.2)
8 <sup>a</sup>	150.5	-----	150.5	-----
1'	134.2	-----	134.2	-----
2',6'	127.9	7.28 d (8.7)	127.9	7.27 d (8.0)
3',5'	122.7	7.11 d (8.7)	122.7	7.11 d (8.0)
4'	147.2	-----	147.2	-----
MeCO	168.7, 168.0, 167.1		168.5, 167.9, 167.2	
MeCO	21.5, 21.3, 21.2	2.31, 2.26, 2.24	21.1, 21.0, 20.8	2.30, 2.28, 2.26

Los cristales obtenidos del hexaacetato de difisina fueron aptos para su análisis por difracción de rayos X de monocristal; éste permitió corroborar la estructura dimérica de **11** y sugirió que el compuesto cristalizó con moléculas de agua. Los parámetros obtenidos mediante el análisis por difracción de rayos X se muestran en las tablas 10.1, 10.1.1 y 10.1.2 (Apéndice-Rayos X). En la figura 6.2.10 se muestra el diagrama ORTEP del compuesto **11**, obtenido mediante el uso del programa MERCURY 3.9, en donde se observaron algunas moléculas de oxígeno desordenadas, lo que se atribuyó a que el valor de R llegará hasta un valor de 0.068.

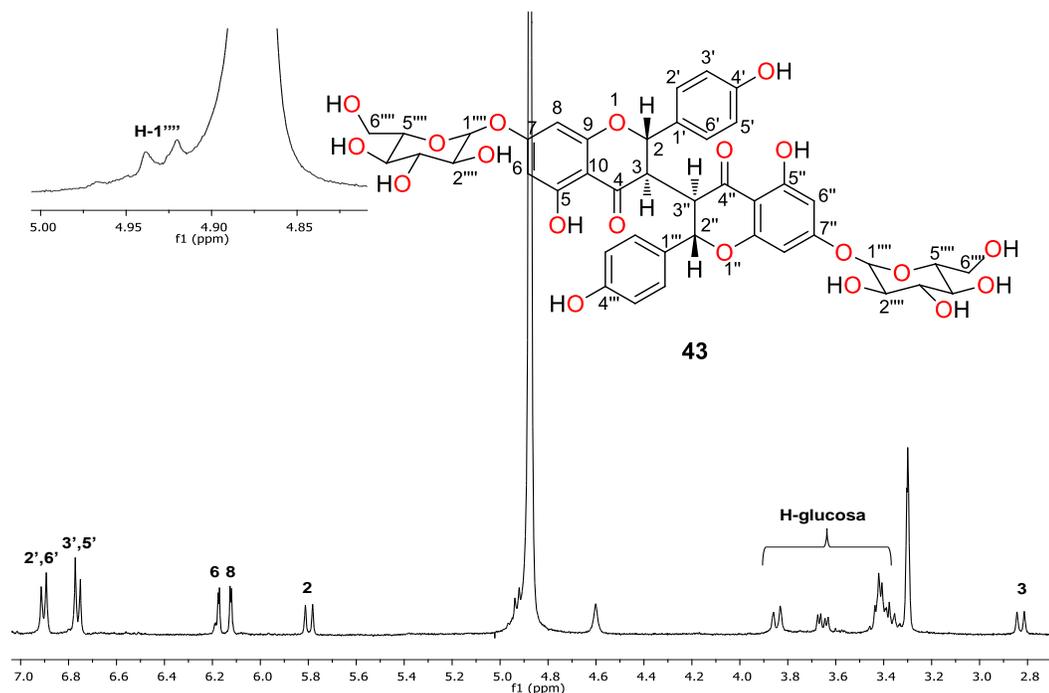


**Figura 6.2.10.** Diagrama ORTEP obtenido con el programa MERCURY del compuesto **11**, con elipsoides al 30% de probabilidad.

### 6.3. Estudio químico del extracto de MeOH de la corteza de *Diphysa minutifolia*

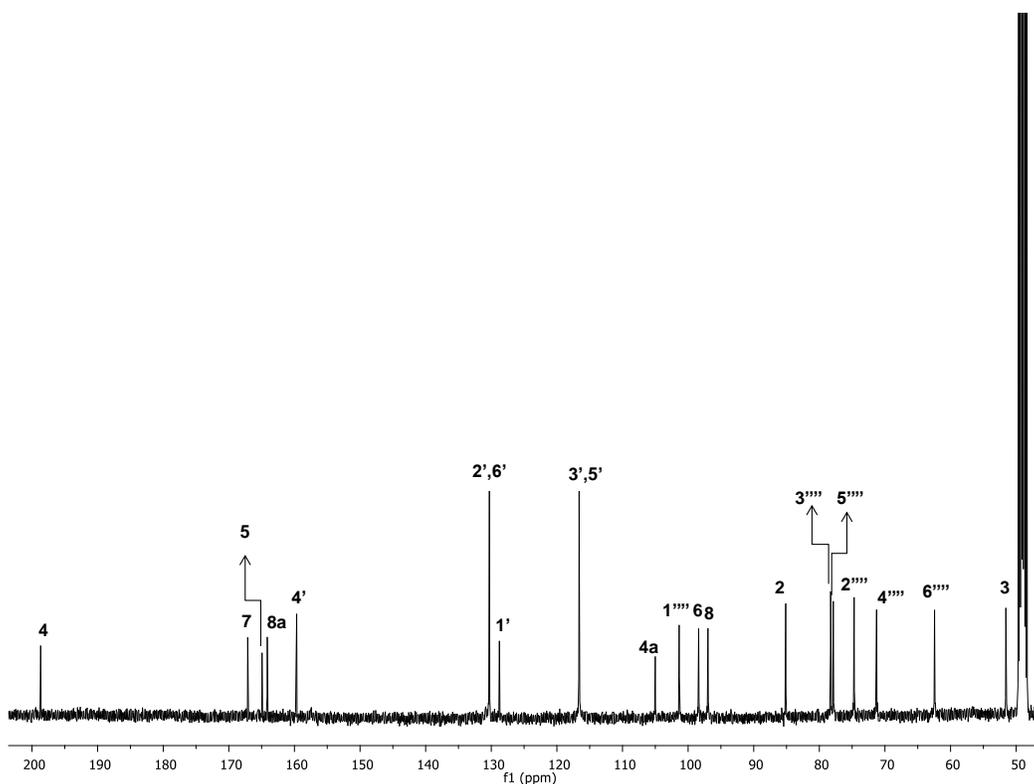
El extracto metanólico (30 g) se sometió a purificación en columna cromatográfica, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y como fase móvil mezclas de disolventes  $\text{CHCl}_3$ -MeOH en polaridad ascendente; se obtuvieron un total de 137 fracciones. En las fracciones 22-27 de 15 mL cada una (polaridad 7:3  $\text{CHCl}_3$ -MeOH) se obtuvo un polvo color café claro (60 mg; 0.2%), que correspondió al metabolito **5**. De la fracción 34-51 (polaridad 7:3  $\text{CHCl}_3$ -MeOH), 52-66 (fracciones de 25 y 15 mL, polaridad 3:2  $\text{CHCl}_3$ -MeOH) y 67-70 (fracciones de 15 mL, polaridad 1:1  $\text{CHCl}_3$ -MeOH) se obtuvo un sólido de color naranja brillante (6.0 g; 20%), correspondiente para **10**, estos fueron identificados inicialmente en el extracto de AcOEt. Continuando con el análisis de este extracto, en las fracciones 81-83 (polaridad 1:1  $\text{CHCl}_3$ -MeOH) y 84-85 (polaridad 2:3  $\text{CHCl}_3$ -MeOH) se identificó una mezcla de compuestos aromáticos glicosilados. Un lote

de 208 mg de la mezcla se recromatografiaron empleando mezclas de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O; en las fracciones 72-75 con volumen de 15 mL (polaridad 82:18:1 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O) y 76-88 (polaridad 80:20:1 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O), se aisló un sólido amorfo de color naranja (23 mg; 0.10%; pf = 215-218 °C) soluble en metanol y DMSO. El análisis por RMN de <sup>1</sup>H (Fig. 6.3.1) mostró en 6.93 y 6.79 ppm dos señales dobles con  $J = 8.0$  Hz de los protones H-2',6' y H-3',5' de un sistema aromático *p*-disustituido; en 6.20 y 6.15 ppm se apreciaron dos señales dobles, con  $J = 2.2$  Hz, que indicaron una disposición *meta* entre los protones H-6 y H-8 del anillo aromático A de la flavanona; en 5.83 ppm se ubicó una señal doble ( $J = 12.0$  Hz), asignada para el protón H-2 con acoplamiento *trans* con H-3; las señales entre 4.93-3.45 ppm indicaron que se encontraba en su forma glucosilada, observándose en 4.96 ppm la señal doble con  $J = 8.0$  Hz correspondiente al protón anomérico H-1''', por último en 2.86 ppm se observó una señal doble ( $J = 12.0$  Hz) asignada al hidrógeno H-3.



**Figura 6.3.1.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H en CD<sub>3</sub>OD a 400 MHz de Ormocarpina (**43**).

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Fig. 6.3.2) se observó la señal del carbono de carbonilo (C-4) en 198.6 ppm, así como las señales de los carbonos  $sp^2$  entre 167.1-96.9 ppm de la porción de la flavanona; en 101.4 ppm se encontró el carbono anomérico de la porción glucosídica y entre 78.3-62.4 ppm se ubicaron las señales que corresponden a los carbonos del azúcar. Los datos se compararon con la literatura (Xu *et al.*, 2011), donde se indica una configuración  $\beta$  para la glucosa y correspondieron para la biflavanona Ormocarpina (**43**) como se aprecia en la tabla 6.3.1. **43** fue aislada por primera vez de *Ormocarpum kirkii* (Nyandat *et al.*, 1990).



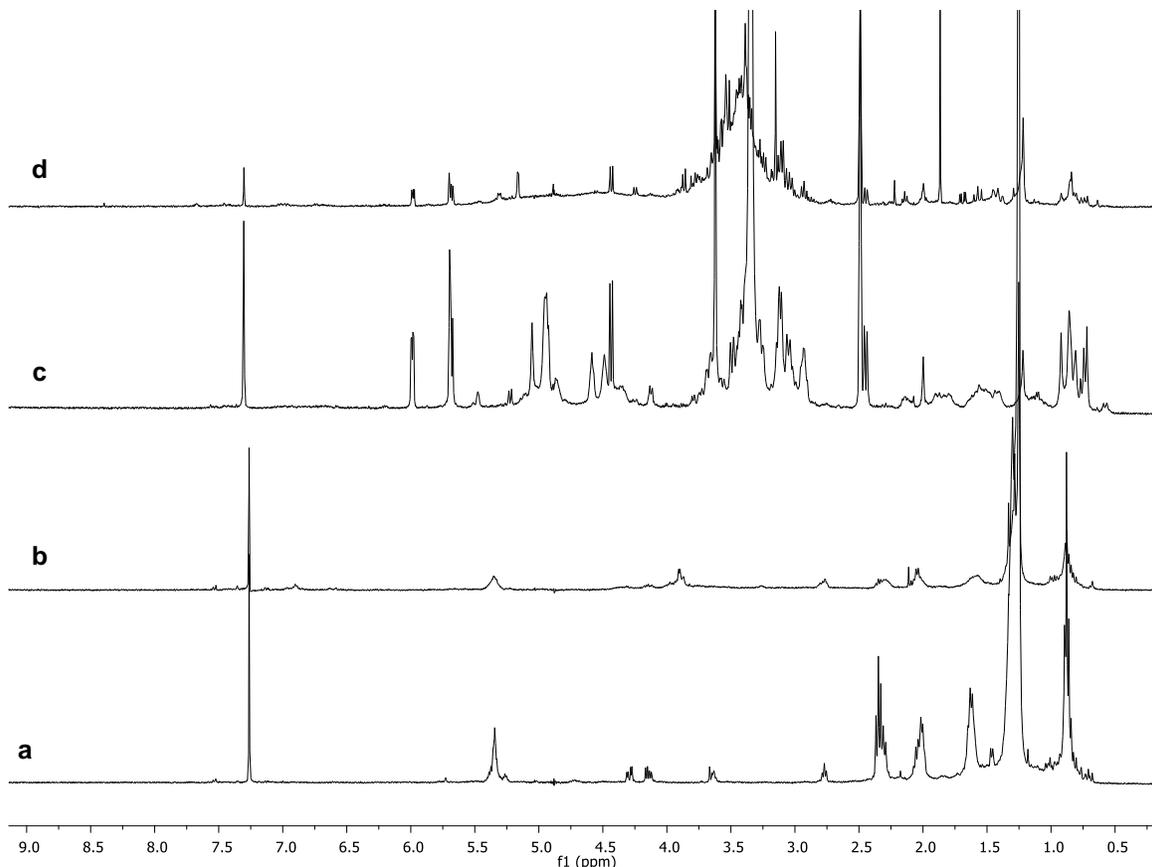
**Figura 6.3.2.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  en  $\text{CD}_3\text{OD}$  a 100 MHz de **43**.

**Tabla 6.3.1.** Comparación de los  $\delta$  (ppm) de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del derivado glucosilado de chamaejasmina (Xu *et al.*, 2011) y datos experimentales de **43**.

H/C	$^1\text{H}$ , multiplicidad, $J$ (Hz)	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ , multiplicidad, $J$ (Hz)- Exp.	$^{13}\text{C}$ - Exp.
2	5.83 d (12.0)	85.1	5.83 d (12.0)	85.1
3	2.86 d (12.0)	51.5	2.86 d (12.0)	51.5
4	-----	198.7	-----	198.6
4a	-----	105.0	-----	105.0
5	-----	164.9	-----	164.9
6	6.22 d (4.0)	98.4	6.20 d (2.2)	98.4
7	-----	167.1	-----	167.1
8	6.16 d (4.0)	97.0	6.15 d (2.2)	96.9
8a	-----	164.1	-----	164.1
1'	-----	128.8	-----	128.7
4'	-----	159.6		159.6
2',6'	6.93 d (8.0)	130.4	6.93 d (8.0)	130.2
3',5'	6.80 d (8.0)	116.7	6.79 d (8.0)	116.6
1''''	4.97 d (8.0)	101.3	4.96 d (8.0)	101.4
2''''	3.44 m	74.6		74.7
3''''	3.41 m	78.2		78.3
4''''	3.46 m	71.1	3.88-3.45 (m)	71.3
5''''	3.47 m	77.7		77.8
6''''	3.89 m	62.2		62.4
	3.68 m			

#### 6.4. Análisis de extractos de frutos de *Randia echinocarpa*

Los extractos de los frutos se obtuvieron mediante maceración a temperatura ambiente y reflujo, empleando disolventes de polaridad ascendente. Cada extracto fue analizado mediante RMN de  $^1\text{H}$  para determinar la naturaleza y abundancia química de los componentes. En el análisis del espectro de  $^1\text{H}$  del extracto hexánico del fruto de *R. echinocarpa* (Fig. 6.4.1a) se observaron de 5.35 a 5.26 ppm señales de hidrógenos vinílicos, adicionalmente se ubicaron señales de metilenos base de heteroátomo (entre 4.30 y 4.15 ppm) y señales de hidrógenos alílicos en 2.79 y 2.05 ppm características de ácidos grasos insaturados y triglicéridos. El espectro del extracto de diclorometano (Fig. 6.4.1b) mostró señales en el área de protones vinílicos (5.75-5.20 ppm), base de heteroátomo (4.15-3.85 ppm) y alifáticos (2.77-0.80 ppm). En el análisis del espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del extracto de AcOEt (Fig. 6.4.1c) se apreció en 7.30 ppm una señal simple de un protón de un sistema insaturado, también se observaron señales de protones vinílicos de 6.00-4.50 ppm y base de heteroátomo de 4.15-3.00 ppm; de 2.50-0.70 ppm se apreciaron señales de protones alifáticos. El espectro de  $^1\text{H}$  del extracto metanólico (Fig. 6.4.1d) mostró el patrón de señales observadas en el extracto de AcOEt y un incremento en el número de señales de hidrógenos base de heteroátomo de azúcares (4.50-3.05 ppm) y la disminución de señales en el área de protones alifáticos (de 2.50 a 0.80 ppm), concluyéndose que estos extractos (AcOEt y MeOH) contienen componentes glicosilados. A partir de los resultados de éste análisis se decidió realizar el estudio químico de los extractos de AcOEt y MeOH.



**Figura 6.4.1.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  obtenidos del fruto de *Randia echinocarpa*: a) hexánico en  $\text{CDCl}_3$ , b)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  en  $\text{CDCl}_3$ , c) AcOEt en  $\text{DMSO-}d_6$  y d) MeOH en  $\text{DMSO-}d_6$ .

### 6.5. Estudio químico del extracto de AcOEt del fruto de *Randia echinocarpa*

Un lote de 20 g de extracto de AcOEt se sometió a separación en columna cromatográfica para la obtención de 60 fracciones utilizando mezclas de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH en polaridad ascendente como fase móvil. Las fracciones se analizaron por CCF para determinar de manera cualitativa su similitud constitutiva. Las fracciones 54 (polaridad 4:6  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH), 55-56 (polaridad 3:7  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH), 57-58 (polaridad 2:8  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH) y 59-60 (polaridad 1:9  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH) se unieron y purificaron mediante columna cromatográfica empleando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH. De esta purificación, en las fracciones 21-22 (polaridad 4:1  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH) y 23-25 (polaridad 7:3  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH) se obtuvo un sólido de color café ( $\text{pf} = 245\text{-}250\text{ }^\circ\text{C}$ ),

como compuesto mayoritario, el cual representó el 0.5% del extracto, este sólido fue soluble en metanol y parcialmente soluble en acetona. En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 6.5.1) se observó en 5.64 ppm una señal múltiple del protón vinílico H-12, en 5.40 ppm se apreció una señal doble con  $J = 7.8$  Hz que integra para un protón, que indicó la presencia de una unidad de glucosa unida a un grupo carboxilo en posición C-27, esto de acuerdo con la señal observada en RMN de  $^{13}\text{C}$  (Fig. 6.5.2) en 95.6 ppm para el carbono C-1'', también en 4.32 ppm apareció una señal doble ( $J = 7.8$  Hz) de H-1', que indicó la presencia de otra unidad de glucosa, ahora unida con un enlace éter, esto es consistente con lo observado en RMN de  $^{13}\text{C}$ , donde el carbono anómero C-1' se observó en 106.6 ppm, así mismo de 3.85 a 3.10 ppm se apreciaron las señales de los protones del esqueleto de las glucosas; de 2.29 a 1.19 ppm se ubicaron las señales de protones metilénicos y metínicos; en 1.04 y 0.99 ppm se observaron dos señales simples de los protones  $\text{CH}_3$ -24 y 25, respectivamente, en 0.94 ppm se observó una señal múltiple correspondiente a los protones de los metilos 29 y 30, por último en 0.90 y 0.85 ppm se apreciaron dos señales simples de los protones metílicos  $\text{CH}_3$ -26 y 23, estos datos fueron comparados con lo reportado en la literatura (Aquino *et al.*, 1988; Lamidi *et al.*, 1995). En la tabla 6.5.1 se aprecia la concordancia de los datos experimentales con los reportados para el compuesto **45**, por lo que se propuso dicha estructura.

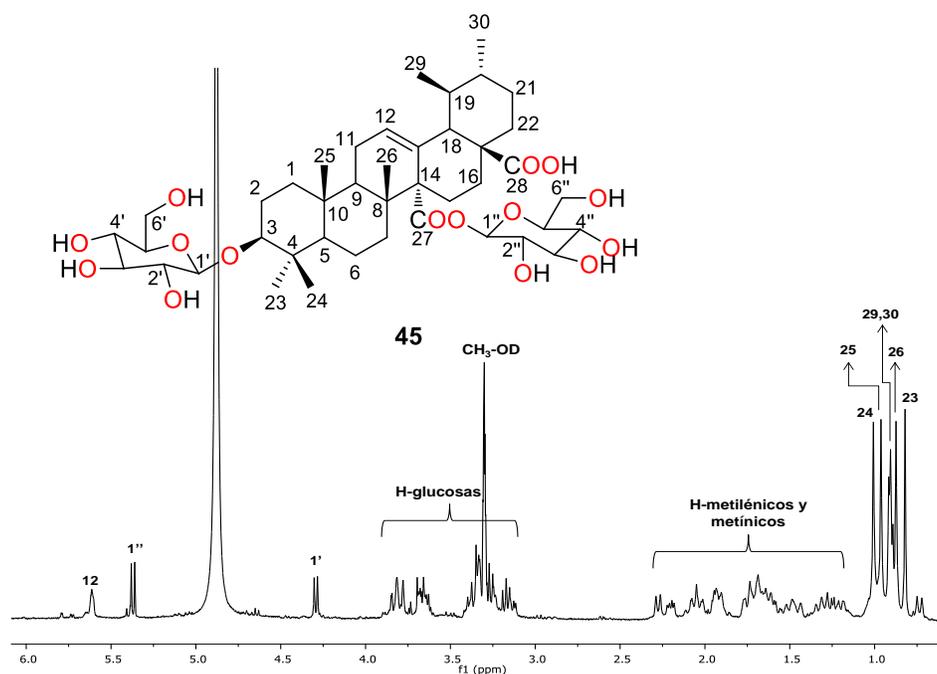
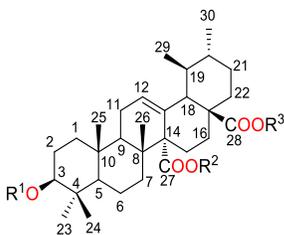


Figura 6.5.1. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  en  $\text{CD}_3\text{OD}$  a 400 MHz de **45**.

Tabla 6.5.1. Comparación de  $\delta$  (ppm) de RMN de  $^1\text{H}$  de los ácidos quinóicos glucosilados **44** y **45** (Aquino *et al.*, 1988) y datos experimentales de **45**.

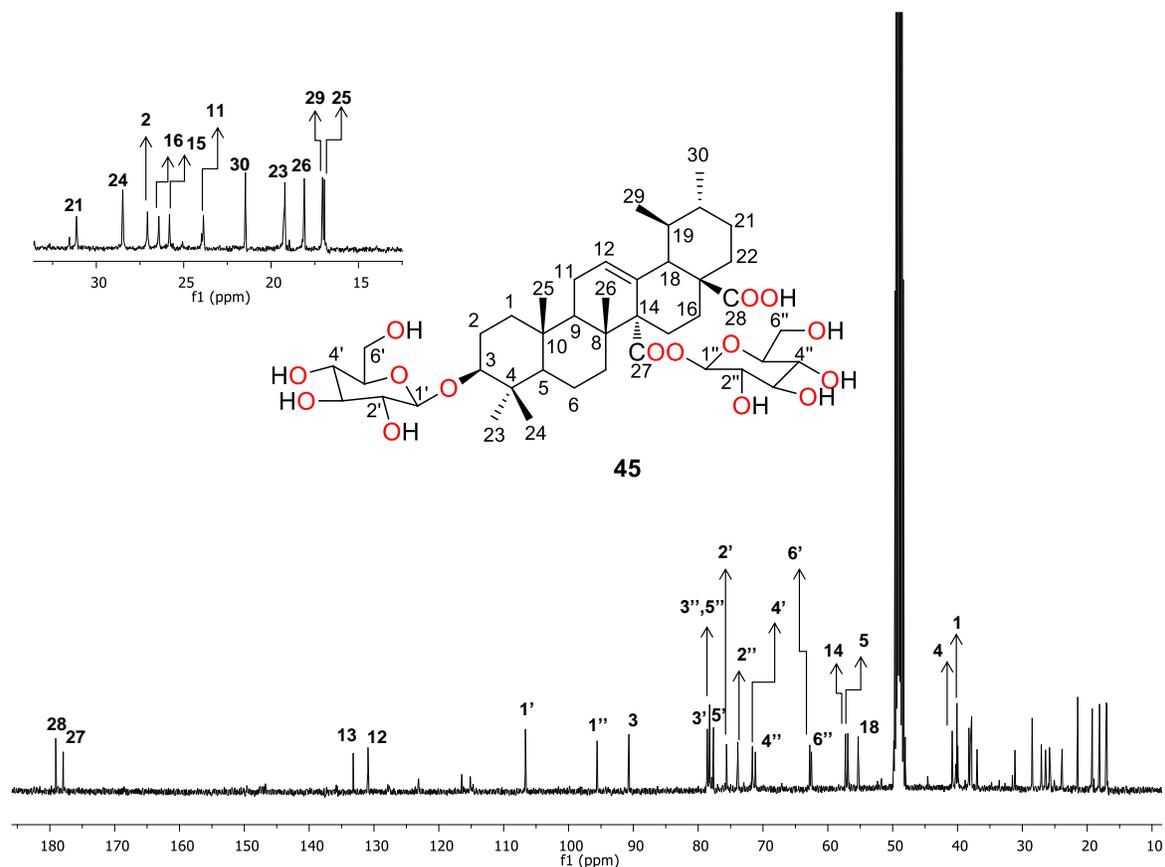
	<b>44</b>	<b>45</b>	
	C-3-Glu C-28-Glu	C-3-Glu C-27-Glu	
	$^1\text{H}$ ,	$^1\text{H}$ ,	$^1\text{H}$ ,
	multiplicidad, $J$	multiplicidad, $J$	multiplicidad, $J$
	(Hz)	(Hz)	(Hz)-Exp.
1'	4.35 d, (7.5)	4.35 d, (7.5)	4.32 d, (7.8)
1''	5.40 d, (7.5)	5.40 d, (7.5)	5.40 d, (7.8)
12	5.58 m	5.62 m	5.64 m
23	0.85 s	0.85 s	0.85 s
24	1.04 s	1.04 s	1.04 s
25	0.99 s	1.00 s	0.99 s
26	0.89 s	0.92 s	0.90 s
29 y	0.96 d	0.96 d	0.94 m
30			



44.  $\text{R}^1 = \text{Glu}$ ;  $\text{R}^2 = \text{H}$ ;  $\text{R}^3 = \text{Glu}$

45.  $\text{R}^1 = \text{Glu}$ ;  $\text{R}^2 = \text{Glu}$ ;  $\text{R}^3 = \text{H}$

El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **45** (Fig. 6.5.2) mostró en 179.1 ppm la señal del carbonilo C-28; en 177.9 ppm se apreció la señal del carbonilo C-27 esterificado con una unidad de glucosa; en 133.2 y 130.9 ppm se observaron las señales de los carbonos  $sp^2$ , C-13 y C-12 respectivamente, en 106.6 y 95.6 ppm se ubicaron las señales de los carbonos anómericos C-1' y C-1'' de las glucosas en posición C-3 y C-27 del esqueleto del triterpeno, en 28.5, 21.4, 19.2, 18.1, 17.1 y 16.9 ppm se apreciaron las señales de los metilos  $\text{CH}_3$ -24,  $\text{CH}_3$ -30,  $\text{CH}_3$ -23,  $\text{CH}_3$ -26,  $\text{CH}_3$ -29 y  $\text{CH}_3$ -25 respectivamente, el resto de las señales del esqueleto carbonado, se observaron de 90.6 a 19.3 ppm y se describen en la tabla 6.5.2. Los datos experimentales de  $^{13}\text{C}$  fueron comparados con la literatura (Aquino *et al.*, 1988; Lamidi *et al.*, 1995) y como se aprecia en la tabla 6.5.2 los  $\delta$  de los carbonos C-12, C-13, C-14 y C-27 coincidieron con los datos experimentales, lo que fue de utilidad para corroborar la propuesta de la presencia de ácido quinóvico  $3\beta\text{-O-(}\beta\text{-D-glucopiranosil-(27}\rightarrow\text{1'')-}\beta\text{-D-glucopiranosil éster (45)$ .



**Figura 6.5.2.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  en  $\text{CD}_3\text{OD}$  a 100 MHz de **45**.

**Tabla 6.5.2.** Comparación de  $\delta$  (ppm) de  $^{13}\text{C}$  de los ácidos quinóico glucosilados **44** y **45** (Aquino *et al.*, 1988) y datos experimentales del compuesto **45**.

C	<b>44</b>	<b>45</b>	Exp.
	C-3-Glu, C-28-Glu	C-3-Glu, C-27-Glu	
1	39.8	40.0	39.9
2	27.1	27.1	27.1
3	90.9	90.9	90.7
4	40.1	40.1	40.1
5	56.6	56.9	56.9
6	19.4	19.4	19.3
7	37.9	37.9	37.8
8	40.7	40.9	40.8
9	47.9	48.0	ND
10	37.9	38.0	38.0
11	24.1	24.0	23.9
12	129.7	130.7	130.9
13	135.0	133.7	133.2
14	59.5	57.8	57.3
15	26.2	25.9	25.8
16	27.1	26.7	26.4
17	48.3	48.1	48.1
18	55.7	55.5	55.3
19	40.4	40.3	40.2
20	38.1	38.3	38.2
21	31.3	31.2	31.1
22	37.3	37.1	37.0
23	19.4	19.3	19.2
24	28.6	28.6	28.5
25	16.9	16.9	16.9
26	18.4	18.2	18.1

27	179.5	178.1	177.9
28	178.5	182.0	179.1
29	17.1	17.1	17.1
30	21.3	21.4	21.4
1'	106.6	106.6	106.6
2'		75.8	75.6
3'		78.6	78.6
4'		71.9	71.6
5'		77.9	77.7
6'		63.0	62.8
1''		95.8	95.6
2''		74.1	74.0
3''		78.4	78.2
4''		71.6	71.2
5''		78.4	78.2
6''		62.9	62.5

\*ND= Desplazamientos no identificados por traslape con el disolvente.

### 6.6. Estudio químico del extracto de MeOH del fruto de *Randia echinocarpa*

Un lote de 20 g de extracto metanólico se fraccionó mediante cromatografía en columna, utilizando como eluente mezclas de CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O y recolectando fracciones de 100 y 50 mL. En las fracciones 34-35 (polaridad 76:24:0.05 CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O) y 36-40 (polaridad 74:26:0.05 CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O) se obtuvieron 3 g de una miel café. Una porción de esta (2.5 g) se recromatografió mediante columna cromatográfica, utilizando como fase móvil mezclas de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O, en las fracciones 80-86 (polaridad 90:10:0.05 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O) se obtuvieron 792 mg (4.0%) de una miel amarilla, como componente mayoritario. Esta fue analizada mediante RMN de 1D y 2D. El espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Fig. 6.6.1) mostró en 7.38 ppm una señal doble ( $J = 1.4$  Hz), asignada al protón vinílico

H-3, así mismo en 6.15 ppm se ubicó una señal doble de dobles ( $J = 5.7, 2.8$  Hz) del protón vinílico H-6; en 5.79 ppm se apreció una señal doble con  $J = 2.5$  Hz, asignada para el protón base de oxígeno H-1, en 5.73 ppm se observó una señal doble de dobles ( $J = 5.7, 1.7$  Hz) del protón H-7; en 4.64 ppm se apreció una señal doble ( $J = 7.9$  Hz) del hidrógeno anomérico de glucosa H-1' en disposición  $\beta$ , así mismo en 3.88 ppm se observó una señal doble de dobles ( $J = 12.0, 1.8$  Hz), que integra para un protón asignada al protón H-6' de la glucosa, en 3.69 ppm se apreció la señal de H-5 traslapada con la señal simple en 3.70 ppm asignada para los hidrógenos del metoxilo, en 3.67 ppm se ubicó una señal múltiple asignada para el hidrógeno H-6', así mismo en 3.63 y 3.51 ppm se apreciaron dos señales dobles con  $J = 12.0$  Hz que integraron ambas para un protón, de los hidrógenos H-10; en 3.36 y 3.30 ppm se ubicaron dos señales múltiples de los protones H-5' y H-3'; en 3.25 ppm se observó una señal múltiple asignada al protón H-4', por último en 3.18 ppm se apreció una señal triple con  $J = 8.5$  Hz del hidrógeno H-2' del esqueleto de glucosa y en 2.61 ppm se ubicó una señal doble de dobles ( $J = 8.5, 2.5$  Hz), asignada a H-9. La asignación de los hidrógenos se concretó con la ayuda del experimento COSY (Fig. 6.6.2) donde se observó la correlación del hidrógeno 9, con el hidrógeno 1, así mismo la correlación de H-5 con H-9, lo que permitió la asignación de H-5; también se observó la correlación del hidrógeno anomérico H-1', con la señal triple de H-2'. Los datos experimentales de RMN de  $^1\text{H}$  se compararon con la bibliografía (Hamerski *et al.*, 2003) (Tabla 6.6.1) y concordaron para el gardenósido (**28**) que contiene un esqueleto de iridoide, característicos de la familia Rubiaceae.

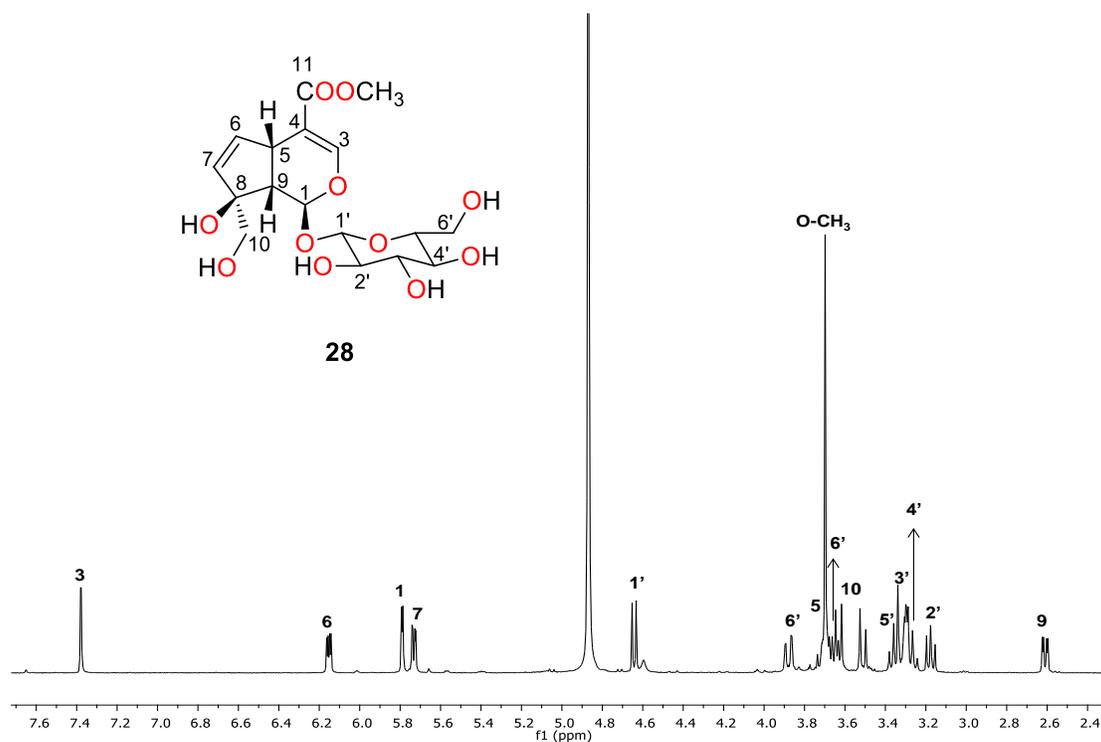


Figura 6.6.1. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  en  $\text{CD}_3\text{OD}$  a 400 MHz del gardenósido (**28**).

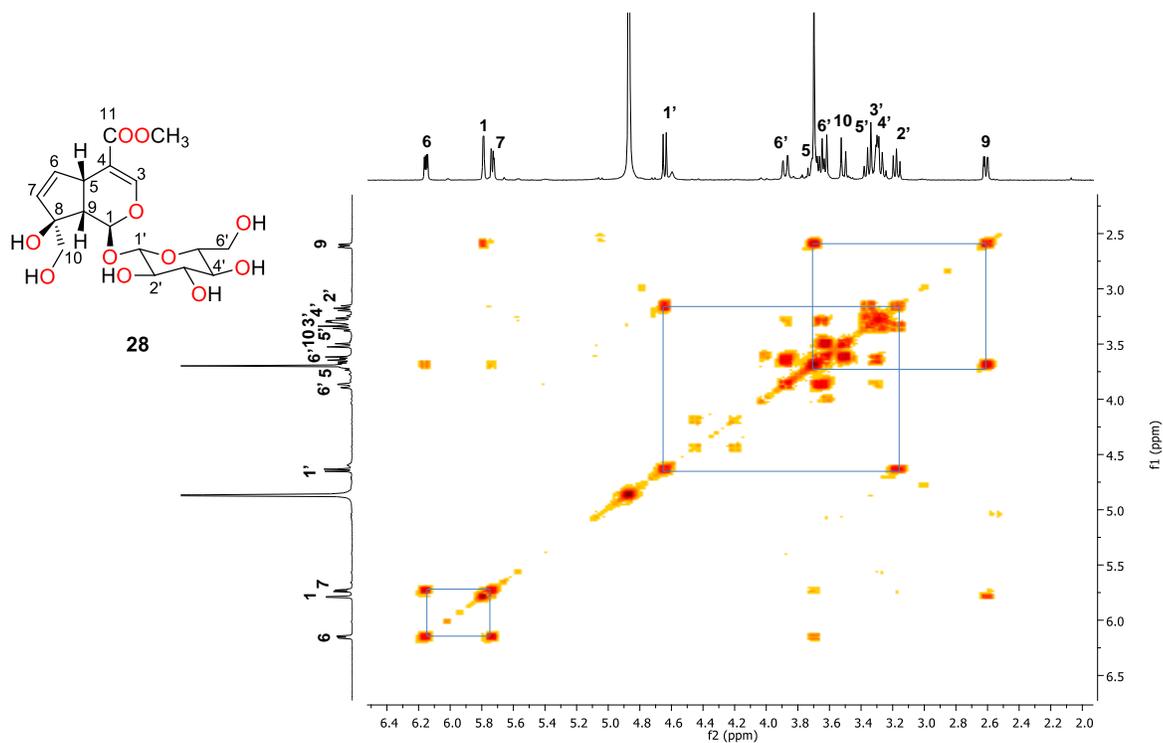


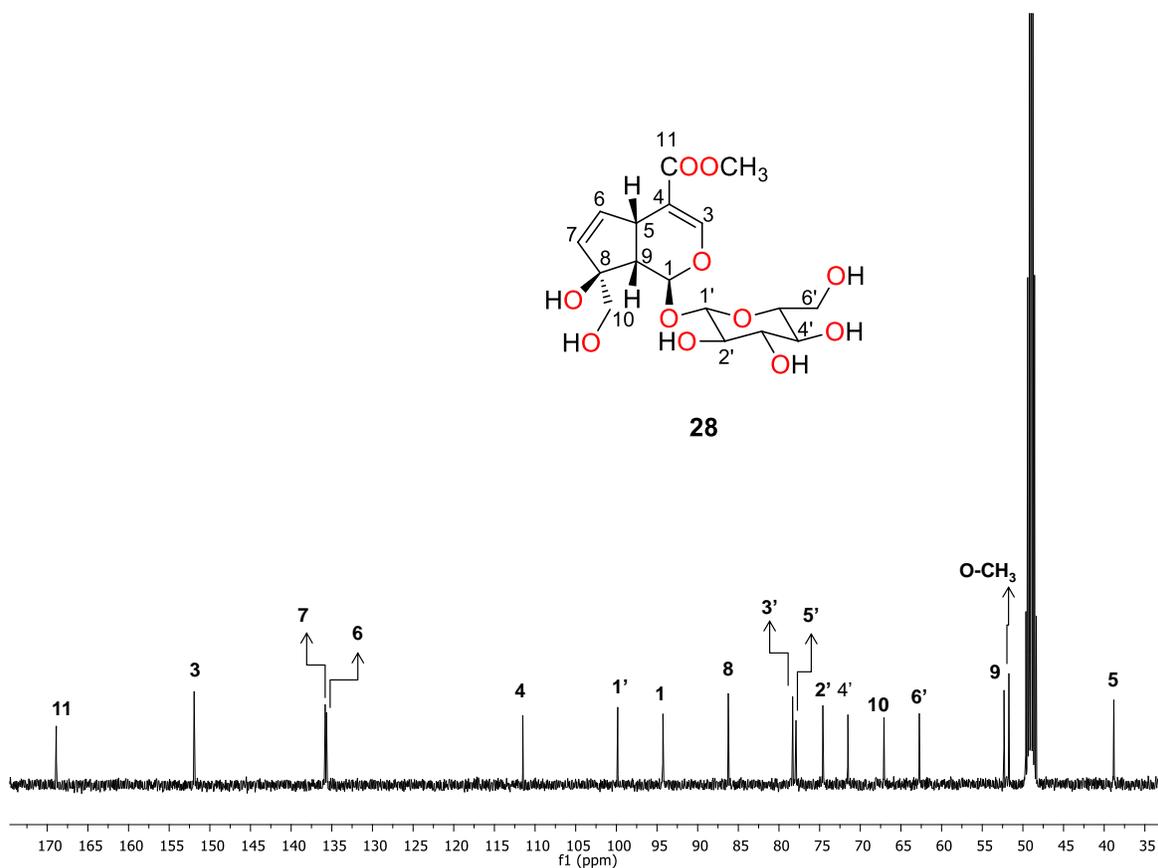
Figura 6.6.2. Espectro COSY del gardenósido (**28**).

**Tabla 6.6.1.** Comparación de  $\delta$  (ppm) de RMN de  $^1\text{H}$  del iridoide glicosilado (Hamerski *et al.*, 2003) y datos experimentales de **28**.

H	$^1\text{H}$ , multiplicidad, $J$ (Hz)	$^1\text{H}$ , multiplicidad, $J$ (Hz)- Exp.
1	5.78 d, (2.5)	5.79 d, (2.5)
3	7.37 d, (1.4)	7.38 d, (1.4)
5	3.69 m	3.69 m
6	6.14 dd, (5.7, 2.7)	6.15 dd, (5.7, 2.8)
7	5.72 dd, (5.7, 1.7)	5.73 dd, (5.7, 1.7)
8	-----	-----
9	2.60 dd, (8.5, 2.5)	2.61 dd, (8.5, 2.5)
10	3.62 d, (11.3)	3.63 d, (12.0)
	3.51 d, (11.3)	3.51 d, (12.0)
OMe	3.69 s	3.70 s
1'	4.65 d, (7.9)	4.64 d, (7.9)
2'	3.18 dd, (7.9, 9.0)	3.18 t, (8.5)
3'	3.28 m	3.30 m
4'	3.24 t, (8.8)	3.25 m
5'	3.35 dd, (2.1, 9.0)	3.36 m
6'	3.88 dd, (10.0, 5.2)	3.88 dd, (12.0, 1.8)
	3.65 dd, (10.0, 5.2)	3.67 m

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  del compuesto **28** (Fig. 6.6.3) se observó la señal del carbonilo de éster (C-11), así mismo se apreciaron entre 151.9 y 111.5 ppm las señales de los carbonos  $sp^2$ ; en 99.8 ppm se ubicó la señal correspondiente al carbono anomérico y de 94.2-38.8 ppm se apreciaron las señales del resto de los carbonos del esqueleto monoterpénoide. Los datos se compararon con la bibliografía (Chaudhuri *et al.*, 1980) (Tabla 6.6.2) y se corroboró la estructura del gardenósido (**28**). Los autores asignan la estereoquímica de C-8 por comparación de los desplazamientos químicos de **28** y su epímero **24**, sobre el efecto que causa el OH axial o ecuatorial en C-8 sobre C-

9 y C-1. La configuración absoluta de **28** aún sigue sin establecerse, ya que en los reportes encontrados (Bailleul *et al.*, 1977, Farid *et al.*, 2002, Chen *et al.*, 2009, Neri-Numa *et al.*, 2020) sólo es considerada su configuración relativa. Adicionalmente, se encontró que este compuesto es comercializado en línea por una empresa extranjera, denominada "Herbest", aunque aquí no se especifica la configuración de dicho compuesto ([es.bjherbest.com/analytical-standard/gardenoside-cas24512-62-7.html](http://es.bjherbest.com/analytical-standard/gardenoside-cas24512-62-7.html)). **28** ha sido aislado de *Feretia apodanthera* (Bailleul *et al.*, 1977), *Randia spinosa* (Hamerski *et al.*, 2003), *Gardenia jasminoides* (Chen *et al.*, 2009) y *Rothmannia witti* (Wisetsai *et al.*, 2020) y se ha informado de su actividad antioxidante (Shang *et al.*, 2019) y como inhibidor de dolor neuropático (Yu *et al.*, 2018).



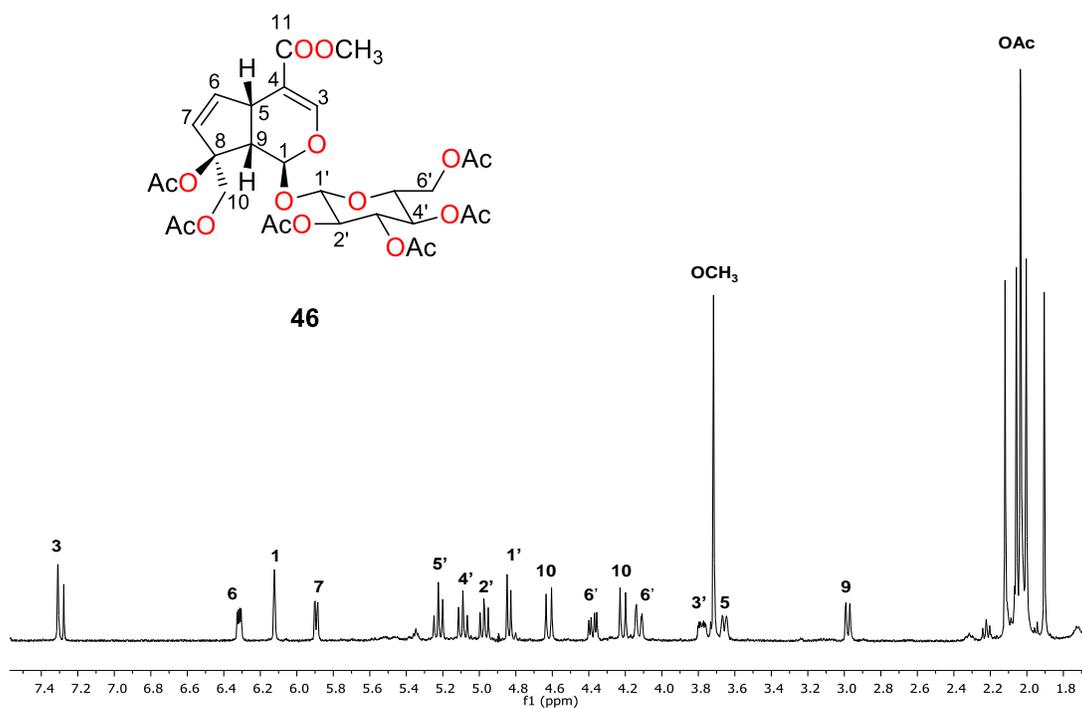
**Figura 6.5.3.** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C en CD<sub>3</sub>OD a 100 MHz del gardenósido (**28**).

**Tabla 6.6.2.** Comparación de datos de RMN de  $^{13}\text{C}$  del gardenósido (Chaudhuri *et al.*, 1980) y datos experimentales de **28**.

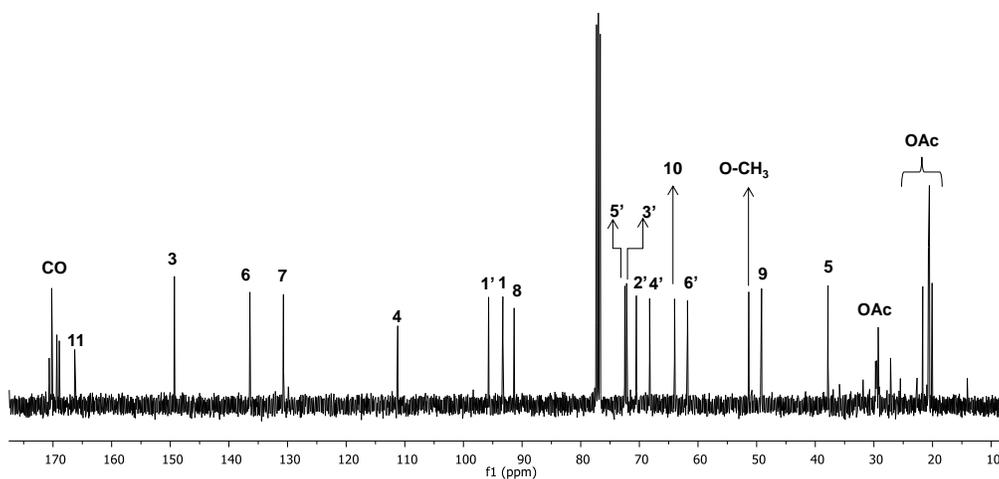
C	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$ - Exp.
1	94.4	94.2
3	152.0	151.9
4	111.6	111.5
5	38.9	38.8
6	135.8	135.6
7	135.9	135.8
8	86.3	86.2
9	52.4	52.3
10	67.1	67.0
11	169.6	168.8
OMe	51.6	51.7
1'	99.9	99.8
2'	74.7	74.6
3'	78.4	78.3
4'	71.6	71.5
5'	78.0	77.9
6'	62.8	62.7

La peracetilación con anhídrido acético y piridina de un lote de 100 mg de la fracción 34-40 (enriquecida con **28**), y posterior purificación del crudo de reacción en columna cromatográfica usando como eluente mezclas de hexanos-acetona, permitió la obtención de un sólido amorfo amarillo (73 mg;  $pf = 52-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) soluble en metanol y etanol, que correspondió al derivado peracetilado de gardenósido. En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 6.6.4) se apreció en 7.31 ppm la señal del hidrógeno vinílico H-3; las señales de los hidrógenos de la glucosa se desplazaron a campo bajo encontrándose entre 5.22 y 3.77 ppm y se logró medir su constante de acoplamiento (Tabla 6.6.3) lo cual no había sido reportado en la bibliografía consultada; de 2.12 a 1.90 ppm se ubicaron cinco señales simples, una de ellas

(2.04 ppm) integró para seis protones, lo que sugirió un traslape, estas correspondieron a los metilos de acetato, lo que indicó que se llevó a cabo la acetilación de seis grupos hidroxilo. La asignación de los protones se realizó mediante espectroscopia bidimensional COSY. El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Fig. 6.6.5) mostró entre 170.6 y 168.9 ppm las señales de los carbonilos de acetato, así mismo se observó el cambio de desplazamiento de C-8 y C-10 (91.4 y 64.0 ppm, respectivamente) y entre 93.3-61.8 ppm, se apreciaron las señales de los carbonos del fragmento glucosídico. En el experimento HETCOR (Fig. 6.6.6) se apreció la correlación de H-1 con C-1 en 93.3 ppm, así como aquella entre H-1' con C-1' en 95.7 ppm, también se observó la correlación de H-7 con C-7 en 130.7 ppm y la correlación de H-6 con C-6 en 136.4 ppm, estas correlaciones permitieron la correcta asignación del espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ . Los datos de RMN al ser comparados con la literatura (Bailleul *et al.*, 1977) concordaron para el 8,10,2',3',4',6'-hexaacetilgardenósido, también conocido como hexaacetilgardenósido (**46**) (Tabla 6.6.3), sin embargo, los datos descritos para C-1, C-1', C-7 y C-6 deben ser revisados.



**Figura 6.6.4.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de **46**.



**Figura 6.6.5.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  en  $\text{CDCl}_3$  a 100 MHz de **46**.

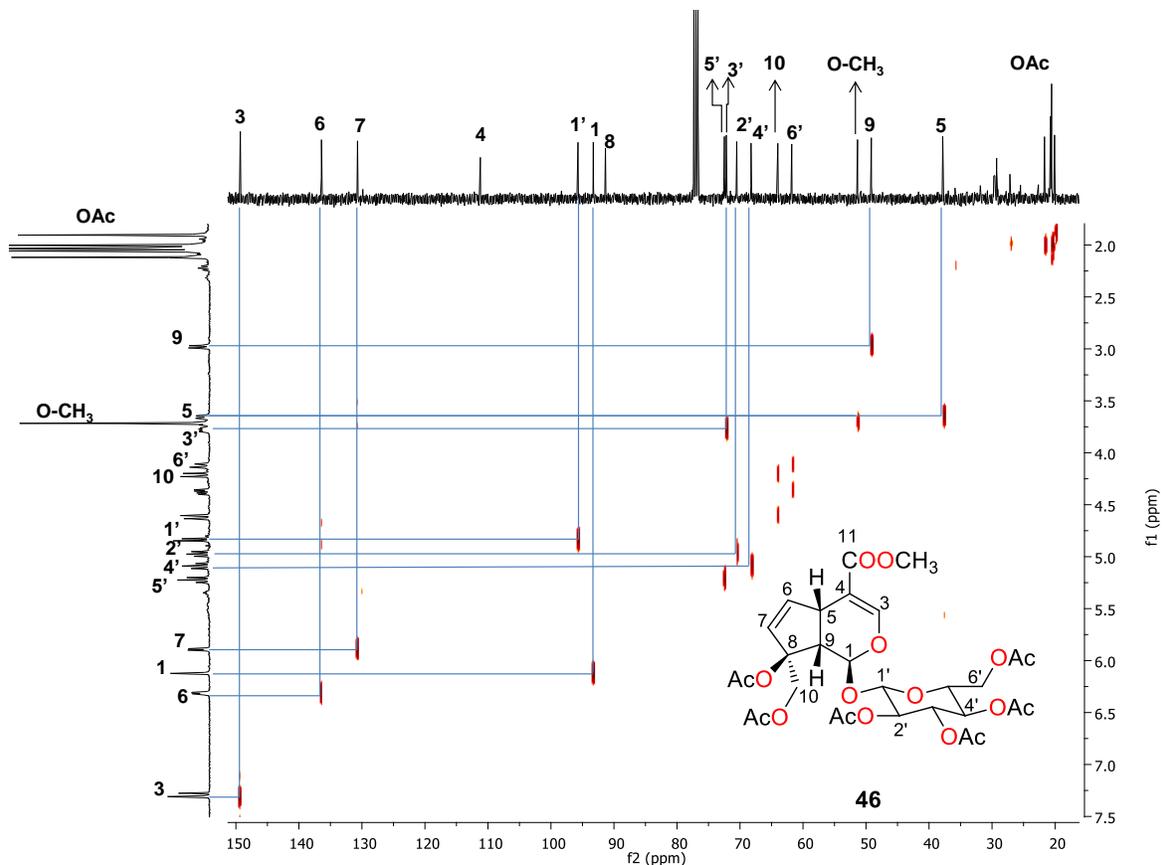


Figura 6.6.6. Espectro HETCOR del hexaacetato de gardenósido (**46**).

Tabla 6.6.3. Comparación de datos de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del derivado hexaacetil gardenósido (Bailleul *et al.*, 1977) y datos experimentales de **28**.

H/C	$^1\text{H}$ , multiplicidad, $J$ (Hz)	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$ , multiplicidad, $J$ (Hz)- Exp.	$^{13}\text{C}$ - Exp.
1	6.07 d	96.0	6.12 s	93.3
3	7.35 s	149.4	7.31 s	149.3
4	-----	111.4	-----	111.2
5	-----	38.0	3.66 d, (8.8)	37.8
6	6.36 (dd)	130.8	6.32 dd, (5.7, 2.8)	136.4
7	5.90 (d)	136.5	5.90 dd, (5.7, 2.8)	130.7
8	-----	91.6	-----	91.4
9	2.80 dd	49.4	2.98 d, (8.7)	49.2
10	-----	64.1	4.62 d, (12.0)	64.0

---

			4.21 d, (12.0)	
11	-----	166.4	-----	166.3
OCH <sub>3</sub>	3.68 s	51.4	3.70 s	51.3
MeCO	2.05-1.80 s	-----	2.12, 2.06, 2.04, 2.04, 2.00, 1.90 s	29.5, 21.7, 20.7, 20.5, 20.5, 20.1
1'	-----	93.5	4.84 d, (8.2)	95.7
2'	-----	70.8	4.97 t, (9.5)	70.5
3'	-----	72.4	3.77 m	72.2
4'	-----	68.5	5.09 t, (9.5)	68.2
5'	-----	72.7	5.22 t, (9.5)	72.5
6'	-----	62.0	4.38 dd, (12.4, 5.0) 4.12 dd, (12.4, 5.0)	61.8

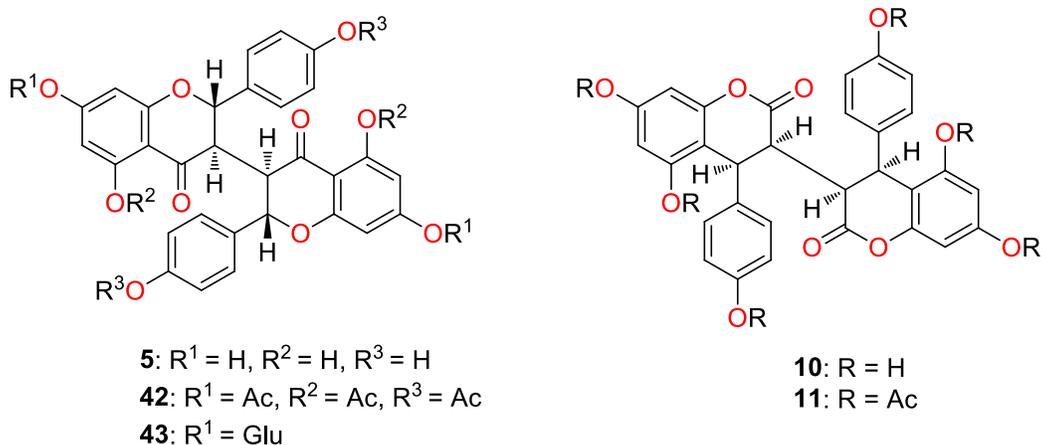
---

## 7. CONCLUSIONES

Con este trabajo se contribuye con el conocimiento de los metabolitos mayoritarios presentes en corteza de *Diphysa minutifolia* y frutos de *Randia echinocarpa*, especies ubicadas en la Tierra Caliente del estado de Michoacán. De *Diphysa minutifolia*, es el primer reporte del estudio fitoquímico.

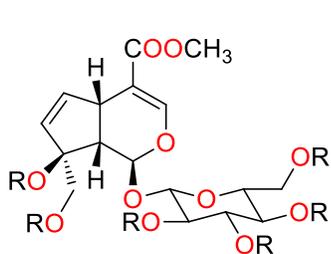
El estudio químico de la corteza de *Diphysa minutifolia* y frutos de *Randia echinocarpa* permitió conocer los tipos de metabolitos mayoritarios presentes. Los extractos menos polares fueron ricos en ácidos grasos y triglicéridos, mientras que los polares fueron ricos en componentes aromáticos y glucosilados.

A partir de los extractos de AcOEt y MeOH de corteza de *Diphysa minutifolia*, se obtuvieron como metabolitos mayoritarios a chamaejasmina (**5**), difisina (**10**) y ormocarpina (**43**), los cuales han sido reportados previamente de otras fuentes vegetales y han mostrado actividades biológicas interesantes, como agentes anticancerosos y antioxidantes (Stermitz *et al.*, 1993; Niwa *et al.*, 1986; Chukwujekwu *et al.*, 2012; Qian & Li, 2017), lo que puede relacionarse con el uso que se da a esta planta en la medicina tradicional de Huetamo, Michoacán. La derivatización de **5** y **10** permitió la obtención de los hexaacetatos **42** y **11**.

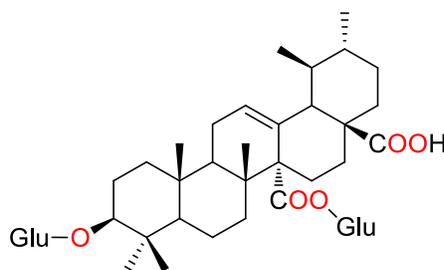


A partir del extracto de AcOEt y MeOH de frutos de *Randia echinocarpa* se obtuvo al ácido quinóvico-3 $\beta$ -O-( $\beta$ -D-glucopiranosil-(27 $\rightarrow$ 1))- $\beta$ -D-glucopiranosil éster (**45**) y al gardenósido (**28**) como metabolitos secundarios mayoritarios. La

derivatización de **28**, permitió la obtención del derivado **46**. El compuesto **28** ha mostrado actividades importantes, entre ellas actividad antioxidante (Shang *et al.*, 2019) lo que puede relacionarse con el uso que se le da al fruto de esta planta, para el tratamiento de cáncer de próstata. Este es el primer reporte del aislamiento de **28** y **45** en *Randia echinocarpa*.



**28.** R = H  
**46.** R = Ac



**45**

## 8. PARTE EXPERIMENTAL

### 8.1. Generalidades

Las separaciones cromatográficas se realizaron mediante cromatografía en columna, empleando columnas de vidrio, gel de sílice 230-400 mallas de la marca MERCK y mezclas de disolventes como fase móvil. Los disolventes fueron destilados para su uso.

Los espectros de RMN de 1D y 2D fueron medidos a 400 MHz para  $^1\text{H}$  y a 100 MHz para  $^{13}\text{C}$  en espectrómetro Varian Mercury Plus 400, utilizando  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  como disolventes y TMS como referencia interna. Los espectros fueron procesados en el programa MestReNova. Los desplazamientos químicos se reportan en partes por millón y las constantes de acoplamiento ( $J$ ) en Hz.

Los espectros IR se midieron empleando un espectrofotómetro Thermo Scientific modelo Nicolet iS 10, empleando la técnica de ATR. Los datos se expresan en números de onda ( $\nu \text{ cm}^{-1}$ ) para los máximos principales de absorción.

Los espectros de UV se adquirieron en MeOH, EtOH,  $\text{CH}_3\text{CN}$  y  $\text{CHCl}_3$  en espectrofotómetro Genesys 10S Uv-VIS, empleando celdas de cuarzo de 1 cm de longitud.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fischer Scientific y no están corregidos.

El análisis de rayos X, se llevó a cabo en un difractómetro Bruker APEX-II CCD con radiación de  $\text{CuK}_\alpha$ . El proceso de refinamiento de la estructura se llevó a cabo utilizando el programa SHELXLE-64, la estructura se visualizó empleando el programa ORTEP y MERCURY 3.9.

## 8.2. Material vegetal

La especie *Diphysa minutifolia* Rose (apéndice 10.1. Constancia de determinación taxonómica) se colectó en el municipio de Huetamo, Michoacán, México (18° 38' 1" N, 100° 54' 25" O) 298 m sobre el nivel del mar en los meses de enero y febrero del año 2020. *Randia echinocarpa* Moc. & Sessé ex DC. (Voucher No. 3648) se colectó en la localidad de Rancho Viejo, Huetamo, Michoacán, México (18°45' 52.7" N, 100° 59' 01.0"O) 540 m sobre el nivel del mar en el mes de septiembre del año 2020. La identificación taxonómica se llevó a cabo en el Herbario de la Facultad de Biología (EBUM) de la UMSNH, por las Biólogas Rosa Isabel Fuentes Chávez y Norma Patricia Reyes Martínez.

## 8.3. Obtención de Extractos

### 8.3.1. Obtención de extractos de la corteza de *Diphysa minutifolia*

540 g de corteza una vez secos y triturados mecánicamente, fueron sometidos a maceración por separado en hexanos, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, AcOEt y MeOH a temperatura ambiente por tres días consecutivos, obteniéndose los extractos correspondientes. Los pesos y porcentajes de rendimiento se describen en la tabla 8.3.1.1.

**Tabla 8.3.1.1.** Rendimientos obtenidos de extractos de corteza de *Diphysa minutifolia*.

Extracto	Peso (g)	Porcentaje (%)
Hexánico	0.37	0.05
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0.80	0.15
AcOEt	9.00	1.60
MeOH	38.22	7.07

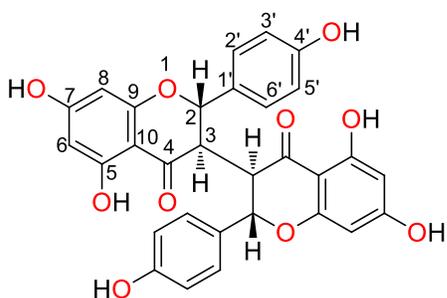
### 8.3.2. Obtención de los extractos de los frutos de *Randia echinocarpa*

1 kg de los frutos se sometió a reflujo durante 5 h utilizando AcOEt y MeOH como disolventes; se obtuvieron 28.80 g (2.88%) de extracto de AcOEt y 66.20 g (6.61%) de extracto de MeOH. Adicionalmente, 300 g de los frutos se sometieron a maceración a temperatura ambiente por 3 días, utilizando hexanos, AcOEt y MeOH como disolventes, obteniéndose los pesos y porcentajes descritos en la tabla 8.3.2.1.

**Tabla 8.3.2.1.** Rendimientos obtenidos de extractos del fruto de *Randia echinocarpa*.

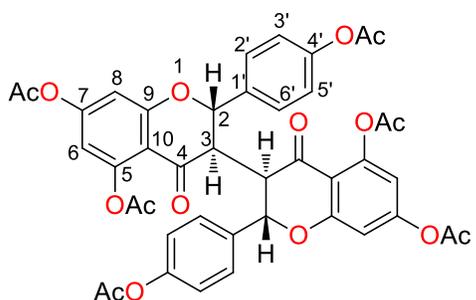
Maceración a temperatura ambiente (300 g)		
Extracto	Peso (g)	Porcentaje (%)
Hexánico	1.08	0.36
AcOEt	3.61	1.20
MeOH	29.42	9.81

### 8.4. Aislamiento del 5, 7, 4', 5'', 7'', 4''-hexahidroxi-(3,3'')-biflavanona (5).



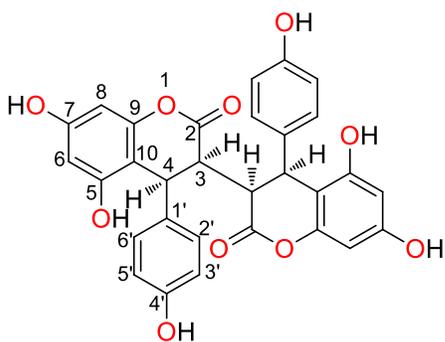
El compuesto **5** se obtuvo como un polvo color café (343 mg, 4%),  $pf = 230-234\text{ }^{\circ}\text{C}$  a partir de la cromatografía en columna utilizando mezclas hexanos-AcOEt y hexanos-AcOEt-MeOH de las fracciones 137-179 (9 g) del extracto de AcOEt de corteza de *D. minutifolia*; la presencia del compuesto también se observó en el extracto metanólico. IR  $\nu_{max}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3500, 1613, 1462, 1243, 1147, 831. UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  ( $\log \epsilon$ ) nm: 203 (4.71). Los datos de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) y  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) se presentan en la tabla 6.2.1.

### 8.5. Obtención del 5, 7,4',5'',7'',4''-hexaacetoxi-(3,3'')-biflavanona (42).



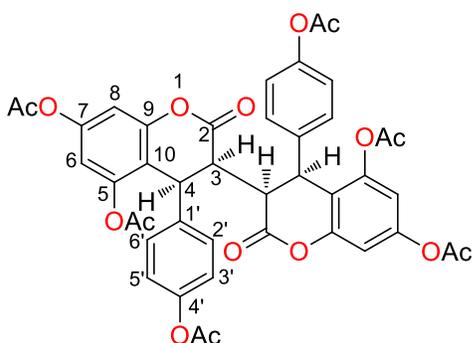
El derivado **42** (33 mg, 26%) se obtuvo en forma de sólido amorfo color blanco, pf = 115-120 °C, a partir de la reacción de peracetilación con anhídrido acético y piridina de 85 mg de **5**. Se purificó mediante cromatografía en columna utilizando mezclas de hexanos-AcOEt. IR  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3097, 1767, 1613, 1437, 1366, 1124, 844. UV (CHCl<sub>3</sub>)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 265 (4.27). Los datos de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) y <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) se presentan en la tabla 6.2.2.

### 8.6. Aislamiento de 3,4-dihidro-4(4'-hidroxifenil)-5,7-dihidroxi-(3,3'')-bicumarina (10)



Del extracto de AcOEt (9 g) se obtuvieron 230 fracciones mediante cromatografía en columna, de las fracciones 193-195 (polaridad 3:7 hexanos-AcOEt), 196-210 (polaridad 1:4 hexanos-AcOEt) y 211-229 (polaridad 1:9 hexanos-AcOEt) se obtuvo al compuesto **10** (4 g, 44.4%) como cristales amorfos de color salmón, pf = >300 °C; la presencia del compuesto también se observó en el extracto MeOH de corteza de *D. minutifolia*. IR  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3411, 1733, 1629, 1611, 1514, 1458. UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 209 (4.93). Los datos de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) y <sup>13</sup>C (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) se presentan en la tabla 6.2.3.

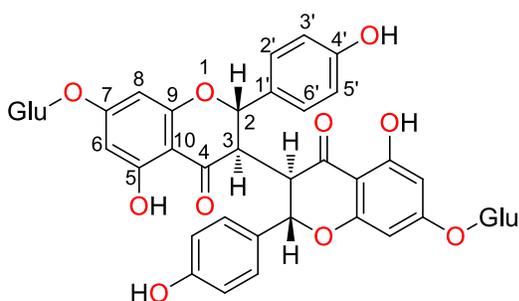
### 8.7. Obtención del 3,4-dihidro-4(4'-acetoxi fenil)-5,7-diacetoxi-(3,3'')-bicumarina (11).



El derivado **11** (230 mg, 31%) se obtuvo en forma de cristales incoloros,  $pf = 170-172\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a partir de la reacción de peracetilación de 500 mg del sólido enriquecido con componentes aromáticos (ver discusión de resultados (6.2), figura 6.2.7). IR  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1763, 1620, 1186, 903. UV ( $\text{CH}_3\text{CN}$ )  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\log \epsilon$ ) nm: 193 (5.19).

Los datos de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) y  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) se presentan en la tabla 6.2.4.

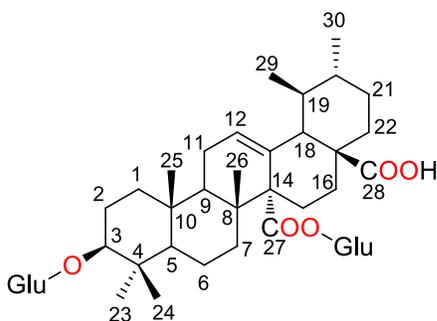
### 8.8. Aislamiento de la Ormocarpina (43).



El compuesto **43** se obtuvo como un sólido amorfo de color naranja (23 mg, 0.10%),  $pf = 215-218\text{ }^{\circ}\text{C}$  a partir de la recromatografía en columna utilizando mezclas  $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH-H}_2\text{O}$  de las fracciones enriquecidas 81-85 (30 g) del extracto metanólico de corteza de

*D. minutifolia*; IR  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3307, 1632, 1579, 1242, 1071, 832. UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\log \epsilon$ ) nm: 216 (4.57). Los datos de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) y  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) se presentan en la tabla 6.3.1.

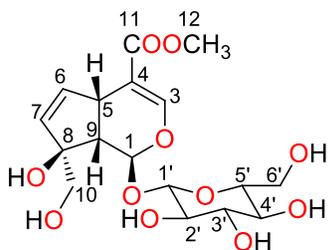
### 8.9. Obtención del ácido quinóvico-3 $\beta$ -O-( $\beta$ -D-glucopiranosil-(27 $\rightarrow$ 1''))- $\beta$ -D-glucopiranosil éster (45).



De la recromatografía en columna de las fracciones 54-60 obtenidas del extracto de AcOEt (20 g) utilizando mezclas de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$  se obtuvo al compuesto **45** (100 mg, 0.5%) como un sólido café,  $pf = 245-250\text{ }^{\circ}\text{C}$ , IR  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3389,

2925, 1689, 1447, 1069. UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 204 (4.08). Los datos de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) y  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) se presentan en la tabla 6.5.1 y 6.5.2.

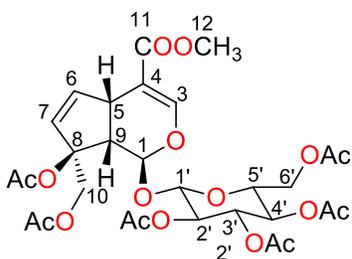
### 8.10. Aislamiento del gardenósido (**28**).



El compuesto se aisló como uno de los componentes mayoritarios del extracto (20 g) metanólico de frutos de *R. echinocarpa*. La purificación de fracciones enriquecidas 34-40 (2.5 g) se llevó a cabo en columna cromatográfica, utilizando mezclas  $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ .

**28** se obtuvo en forma de miel ligeramente amarilla (792 mg, 4%); IR  $\nu_{\max}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3345, 2927, 1689, 1638, 1291, 1072, 863. UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 236 (3.95). Los datos de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) y  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) se presentan en la tabla 6.6.1 y 6.6.2.

### 8.11. Obtención del 8, 10, 2', 3', 4', 6'-hexaacetilgardenósido (**46**).



El derivado **46** (73mg, 45%) se obtuvo en forma de sólido amorfo,  $\text{pf} = 52\text{-}55\text{ }^\circ\text{C}$ , a partir de la reacción de peracetilación de 100 mg de fracciones enriquecidas con **28**. IR  $\nu_{\max}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2921, 1740, 1367, 1214, 1034, 826. UV (EtOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 233 (3.87). Los datos de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) y  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,

$\text{CDCl}_3$ ) se presentan en la tabla 6.6.3.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Adem F.A., Mbaveng A.T., Kuete V., Heydenreich M., Ndakala A., Irungu B., Yenesew A. & Efferth T. (2019). Cytotoxicity of isoflavones and biflavonoids from *Ormocarpum kirkii* towards multi-factorial drugs resistant cancer, *Phytomedicine*, 58, 152853.
- Agre K.G., Das R.J. & Umekar M.J. (2021). Phytochemical screening, thin layer chromatography and antimicrobial study of *Randia spinosa* fruits. *Journal of Pharmaceutical Research*, 10, 1000-1008.
- Aguilar M. G., León G. A. P., & Mejía F.D.B. (2021). Botánica aplicada; Fabaceae. Universidad Autónoma de México, Facultad de estudios superiores Iztacala, *ResearchGate*.
- Anaya L.A., & Espinosa G.F. (2006). La química que entretiene a los seres vivos, *Ciencia*, 83, 4-13.
- Aquino R., de Simone F., Pizza C., Cerri R. & de Mello J. F. (1988). Quinovic acid glycosides from *Guettarda platypoda*, *Phytochemistry*, 27, 2927-2930.
- Arizaga S., Huerta A., Martínez-Cruz J. & Cervantes M. (2018). Monografía de las plantas medicinales de Michoacán. UNAM. México. p. 9-15.
- Avellaneda S.S., Rojas H.M., Cuellar C.A. & Fonseca J.R. (2005). Actividad antibacteriana de *Diphysa minutifolia* Rose, *Rev. Cubana Plant Med*, 10, 1-10.
- Bailleul F., Delaveau P., Rabaron A., Plat M. & Koch M. (1977). Feteroside et Gardenoside du *Feretia Apodanthera*: RMN Du Carbone 13 En Série Iridoide, *Phytochemistry*, 16, 723-726.
- Borhidi A. & Diego-Pérez N. (2002). Introducción a la taxonomía de la familia Rubiaceae en la flora de México. *Acta Botanica Hungarica*, 44, 237-280.
- Borhidi A. & Diego-Pérez N. (2008). Flora de Guerrero. Facultad de Ciencias, UNAM. Las prensas de ciencias.
- Borhidi A., García-González I. & Martínez E. (2007). Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XIV. Tres taxa nuevos del género *Randia* L., *Acta Botanica Hungarica*, 49, 53-57.

- Borhidi A. (2012). Rubiáceas de México. 2ª ed., Academia de Ciencias de Hungría, Budapest, Hungría, 393 pp.
- Bruneau A., Doyle J.J., Herendeen P., Hughes C., Kenicer G., Lewis G., Mackinder B., Pennington R.T., Sanderson M.J. & Wojciechowski M.F. (2013). Legume Phylogeny Working Group. Legume phylogeny and classification in the 21st century: progress, prospects and lessons for other species-rich clades, *Taxon*, 62, 217-248.
- Bye R. & Linares E. (1983). The role of plants found in the Mexican markets and their importance in ethnobotanical studies, *Journal of Ethnobiology*, 3, 1-13.
- Bye R., Linares E., Mata R., Albor C., Castañeda P. & Delgado G. (1991). Ethnobotanical and Phytochemical Investigation of *Randia echinocarpa* (Rubiaceae). *Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica*, 62, 87-106.
- Cáceres A., López B., Juárez X., del Águila J. & García S. (1993). Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 2. Evaluation of antifungal activity of seven American plants, *Journal of Ethnopharmacology*, 40, 207-213.
- Camargo-Ricalde S. L., Grether R., Martínez-Bernal A., García-García V. & Barrios-del-Rosal S. (2001). Especies útiles del género *Mimosa* (Fabaceae-Mimosoideae) en México, *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 68, 33-44.
- Cano-Campos M. C., Díaz-Camacho S. P., Uribe-Beltrán M. J., López-Angulo G., Montes-Ávila J., Paredes-López O. & Delgado-Vargas F. (2011). Bio-guided fractionation of the antimutagenic activity of methanolic extract from the fruit of *Randia echinocarpa* (Sessé et Mociño) against 1-nitropyrene, *Food Research International*, 44, 3087–3093.
- Castro O. & Valverde V. (1985). Chamaejasmin, A biflavanone from wood of *Diphysa robinoides*, *Phytochemistry* 24, 367-368.

- Castro O., López J. & Vergara A. (1986). Isoflavans and stilbene from wood of the decay-resistant tropical tree *Diphysa robinoides*, *Journal of Natural Products*, *49*, 680-683.
- Chalo D., Kakudidi E., Origa-Oryem H., Namukobe J., Frank K., Yenesew A. & Wessjohann L. (2020). Chemical constituents of the roots of *Ormocarpum senoides* subsp. *Zanzibaricum*, *Biochemical Systematics and Ecology* *93*, 1-3.
- Chaudhuri K.R. Afifi-Yazar F. & Sticher O. (1980). <sup>13</sup>C NMR Spectroscopy of Naturally Occurring Iridoid Glucosides and their Acylated Derivates, *Tetrahedron*, *36*, 2317-2326.
- Chen QC., Zhang WY., Youn U., Kim H., Lee I., Jung HJ., Na M., Min BS. & Bae K. (2009). Iridoid glycosides from *Gardeniae Fructus* for treatment of ankle sprain, *Phytochemistry*, *70*, 779-784.
- Chifa, C. (2010). La perspectiva social de la medicina tradicional. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, *9*, 242-245.
- Chukwujekwu J.C., de Kock C.A., Smith P.J., van Heerden F.R. & van Staden J. (2012). Antiplasmodial and Antibacterial activity of Compounds isolated from *Ormocarpum trichocarpum*, *Planta Medica*, *78*, 1857-1860.
- Cruz S. J. (2007). Más de 100 plantas medicinales. 1ª ed. Las palmas Gran Canaria. p. 9-17.
- Cué-Bär M. E, Villaseñor J. L., Arredondo-Amezcuca L., Cornejo-Tenorio G. & Ibarra-Manríquez G. (2006), La Flora Arbórea de Michoacán, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, *78*, 47-81.
- Cuevas-Juárez E., Yuriar-Arredondo K.Y., Pío-León J.F., Montes-Avila J., López-Angulo G., Díaz-Camacho S.P. & Delado-Vargas F. (2014). Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory properties of soluble melanins from the fruits of *Vitex mollis* Kunth, *Randia echinocarpa* Sessé et Mociño and *Crescentia alata* Kunth, *Journal of Functional Foods*, *9*, 78-88.
- Dewick M.P. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. 3ª ed. Ed. Wiley, United Kingdom, 2009.

- Dhillon S.A. (2004). Integrative ecological restoration and local involvement in the Tehuacán-Cuicatlan Valley, Mexico, *Environmental Conservation*, 31, 1-3.
- Dudavera N., Negre F., Nagegowda D.A. & Orlova I. (2006). Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 25, 417-440.
- Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México. Huetamo. Citado en URL:<http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM16michoacan/municipios/16038a.html>.
- Farid R.A.H., Kunert O., Haslinger E. & Seger C. (2002). Isolation and Structure Elucidation of Iridoide and Coumarin Derivates from *Xeromphis nilotica* (Rubiaceae), *Monatshefte für Chemie*, 133, 1453-1458.
- Fuentes F.V. (2004). Biodiversidad de las especies medicinales, *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 9, ISSN 1028-4796.
- González-Gómez JC., Ayala-Burgos A. & Gutiérrez-Vázquez E. (2006). Determinación de fenoles totales y taninos condensados en especies arbóreas con potencial forrajero de la Región de Tierra Caliente Michoacán, México, *Livestock Research for Rural Development*, 18, 152.
- Hamerski L., Furlan M., Silva S.D.H., Cavalheiro A.J., Eberlin N.M., Tomazela D.M. & da Silva B.V. (2003). Iridoid glucosides from *Randia spinosa* (Rubiaceae), *Phytochemistry*, 63, 397-400.
- Heitzman M.E., Neto C.C., Winiarz E., Vaisberg A.J. & Hammond G.B. (2005). Ethnobotany, Phytochemistry and Pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). *Phytochemistry*, 66, 5-29.
- Herbest. Citado en URL: [es.bjherbest.com/analytical-standard/gardenoside-cas24512-62-7.html](http://es.bjherbest.com/analytical-standard/gardenoside-cas24512-62-7.html)
- Jangwan S.J. & Singh R. (2014). *In vitro* cytotoxic activity of triterpene isolated from bark of *Randia dumetorum* Lamk, *Journal of Current Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 4, 1-9.
- Jiménez M., Ruíz R., Navarro A., Hernández JM. & Reyes R. (2000). Plantas usadas en México para curar la diarrea (estudio químico y bacteriológico). *Revista Cubana Química*, 13, 4-22.

- Judd W.C. (2002). Plant systematics: a phylogenetic approach, *Sinauer Associates*, 287-292.
- Judkevic D.M., Salas M.R. & González A.M. (2015). Revisión de *Randia* (Rubiaceae) en Argentina, taxonomía y morfoanatomía, *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 50, 607-625.
- Kandimalla R., Kalita S., Saikia B., Choudhury B., Singh P. Y., Kalita K., Dash S. & Kotoky J. (2016). Antioxidant and hepatoprotective potentiality of *Randia dumetorum* Lam Leaf and Bark via Inhibition of oxidative stress and inflammatory cytokines. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 1-8.
- Khwanchuea R., Ferreira Q.E., Marston A., Jansakul O. & Hostettmann K. (2008). Saponins from Fresh Fruit of *Randia siamensis* (Lour) Raem & Schult (Rubiaceae), *Natural Product Communications*, 3, 163-170.
- Kingston D.G. (1993). Taxol, an exciting anticancer Drug from *Taxus brevifolia*, *Human Medicinal Agents from Plants. ACS Symposium*, 534, 138-148.
- Lamidi M., Oliver E., Faure R., Debrauwer L., Nze-Ekekang L. & Balansard G. (1995). Quinovic acid glycosides from *Nauclea diderrichii*, *Phytochemistry*, 38, 209-212.
- Mahabaleswara K., Chandrasekhav N., Chandrappa C.P., Channabasava & Govindappa M. (2017). *In vitro* and *in silico* antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activity of methanol leaf extract of *Randia spinosa*, *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 4, 867-877.
- Martínez M. (1979). Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas medicinales. Fondo de cultura económica , México.
- Martínez, M. (1996) Las plantas medicinales de México. México: Editorial Botas.
- Martins D., & Nunez, V.C. (2015). Secondary Metabolites from Rubiaceae Species. *Molecules*, 20, 13422-13495.
- Mesa V.A. (2017). Una visión histórica en el desarrollo de fármacos a partir de productos naturales, *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 48, 16-27.

- Narváez M.J. (2007). Búsqueda de sustancias con actividad antioxidante y antihiperlipidémica en especies selectas de la familia Fabaceae empleadas en medicina tradicional. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias. UNAM. Posgrado en Ciencias Químicas, México.
- Nazhand A., Durazzo A., Lucarini M., Moilia M. A., Omri B. & Santini A. (2019). Rewiring cellular metabolism for heterologous biosynthesis of Taxol. *Natural Products Research*, 1-12.
- Neri-Numa I.A., Pessôa G.M., Arruda H.S., Araujo P.G., Nicolau P.B., Figueiredo A.C.F., Gois R.T. & Pastore F.G. (2020). Genipap (*Genipa Americana* L) fruit extract as a source of antioxidant and antiproliferative iridoids, *Food Research International*, 134.
- Newman D.J. & Cragg G.M. (2020). Natural products as sources of new drugs over the nearly four, decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, 83, 770-803.
- Niwa M., Otsuji S., Tetamatsu H., Liu GQ., Chen XF. & Hirato Y. (1986). Stereostructures of two biflavanones from *Stellera chamaejasme*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 34, 287-289.
- Nyandat E., Hassanali A., de Vicente Y., Multari G., & Galeffi C. (1990). The 7,7''- $\beta$ -Diglucoside of (2S,3R)-chamaejasmine from *Ormocarpum kirkii*, *Phytochemistry*, 29, 2361-2364.
- Oceguera S., Moreno E. & Koleff P. (2005). Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. CONABIO. *Biodiversitas*, 62, 12-15.
- Pabón L. & Hernández-Rodríguez P. (2012). Chemical importance of *Jatropha curcas* and its biological, pharmacological and industrial applications, *Revista Cubana de plantas medicinales*, 17, 194-209.
- Pamatz-Bolaños T., Cabrera-Munguía D., González H., Del Río R. E., Rico L., Rodríguez-García G., Gutiérrez-Alejandre A., Tzompantzi F. & Gómez-Hurtado M. A. (2018). Transesterification of *Caesalpinia eriostachys* seed oil using heterogeneous and homogeneous basic catalysts. *International Journal of Green Energy*, 15(8): 465-472.

- Peraza-Sánchez S.R., Cen-Pacheco F., No-Chimal A., May-Pat F., Sima-Polanco P., Dumonteil E., García-Miss M.R. & Mut-Martín M. (2007). Leishmanicidal evaluation of extracts from native plants of the Yucatán peninsula, *Fitoterapia*, 78, 315-318.
- Pino-Benítez N. (2016). Botánica y Screening fitoquímico de 12 plantas usadas en medicina tradicional en el departamento del Chocó, Colombia, *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 2, 33-44.
- Qian S. & Li M. (2017). Chamaejasmine induces apoptosis in HeLa cells through the PI3K/Akt signaling pathway, *Anticancer Drugs*, 28, 40-50.
- Rahma M.A., & Saadon H.L. (2019). Natural dyes extracted from plants and their application to all-photonic devices. Technologies and materials for renewable energy, environment and sustainability *AIP Conference Proceedings*, 2190, 020031-1-020031-9.
- Rojas H.N., Avellaneda S.S. & Cuéllar C.A. (2010). Ethnomedical plants to treat infection diseases used in Tierra Caliente, Guerrero, México, *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 2, 1-13.
- Rzedowski J., Torres C.L. & Grether R. (2016). Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fascículo 192. Instituto de Ecología A.C. Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro, Michoacán, México.
- Sagredo-Nieves L. (1986). Isolation of lapachol from *Diphysa robinoides*, *Journal of Natural Products*, 49, 547.
- Sahpaz S., Gupta P.M. & Hostettmann K. (2000). Triterpene saponins from *Randia formosa*, *Phytochemistry*, 54, 77-84.
- Santos-Cervantes M. E., Ibarra-Zazueta M. E., Loarca-Piña G., Paredes-López O. & Delgado-Vargas F. (2007). Antioxidant and antimutagenic activities of *Randia echinocarpa* fruit. *Plants Foods Human Nutrition*, 62, 71-75.
- Sati P.O., Chaukiyal C.D., Nishi M., Miyahara K. & Kawasaki T. (1986). An iridoid from *Randia dumetorum*, *Phytochemistry*, 25, 2658-2660.
- Shang MQ., Wang TJ., Jiang YL., Yu S., Yan H., Zhang L., Wu QN., Geng T., Huang WZ., Wang ZZ. & Xiao W.(2019). Comparative analysis of sixteen active compounds and antioxidant and anti-influenza properties of

- Gardenia jasminoides* fruits at different times and application to the determination of the appropriate harvest period with hierarchical cluster analysis, *Journal of Ethnopharmacology*, 233, 169-178.
- Simões C.M., Schenkel E.P., Gossmann G., Mello J.C., Menzt L.A. & Petrovick P.R. *Farmacognosia: Da planta ao medicamento*, 6<sup>th</sup> ed. UFSC University Press: Florianópolis, Brazil, 2004, p. 1104.
- Singh, B., Singh, J. & Singh V. M., (2014). Ethnomedicinal, pharmacological properties and Chemistry of Fabaceae Family. *Journal of Medicinal Pharmaceutical and Allied Sciences*, 02, 24-28.
- Sotheeswaran S., Bokel M. & Kraus W. (1989). A hemolytic saponin, Randianin from *Randia dumetorum*, *Phytochemistry*, 28, 1544-1546.
- Stermitz R.F., Mead W.E., Foderaro A. T. & Castro C.O. (1993). Diphysin, a 3-3'-Dimeric 4-Phenyldihydrocoumarin from *Dyphysa robinoides*, *Phytochemistry*, 34, 287-289.
- Torres-Tapia L. W., Sosa-Espinosa T. & Peraza-Sánchez S. R. (2013). Isolation of a *p*-hydroxyphenyl anhydride from the leaves of *Diphysa carthagenensis*, *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 27, 286-289.
- Vargas S.R. & Perez G. R.M. (2002). Diuretic and urolithiatic activities of the aqueous extract of the fruit of *Randia echinocarpa* on rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 83, 145-147.
- Vázquez-Luna A., Pérez-Flores L. & Díaz-Sobac R. (2007). Biomoléculas con actividad insecticida: una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria, *CYTA-Journal of Food*, 5, 306-313.
- Viegas D. R., da Silva B. V. & Barreiro J.E. (2006). Os produtos naturais e a química medicinal moderna, *Química Nova*, 29, 326-337.
- Villaseñor J. (2003) Diversidad y distribución de las magnoliophyta de México *Interciencia*, 28, 160-167.
- Weissmann G. (1991). Aspirin, *Scientific American*, 264, 84-90.
- Wikström N., Bremer B. & Rydin C. (2020). Conflicting phylogenetic signals in genomic data of the coffee family (Rubiaceae). *Journal of systematics and evolution*, 58, 440-460.

- Wisetsai A., Schevenels F., Faksri K., Tontapha S., Amornkitbamrung V. & Lekphrom R. (2020). New iridoid glucosides from the roots of *Rothmannia wittii* (Craib) Bremek, *Natural Product Research*, 1-9.
- Xu Y.J., Capistrano I. R., Dhooghe L., Foubert K., Lemiére F., Maregesi S., Baldé A., Apers S. & Pieters L. (2011). Herbal Medicines and Infectious Diseases: Characterization by LC-SPE-NMR of Some Medicinal Plants Extracts used against Malaria, *Planta Medica*, 77, 1139-1148.
- Xu Y.J., Foubert K., Dhooghe L., Lemiére F., Maregesi S., Coleman M. C., Zou Y., Ferreira D., Apers S. & Pieters L. (2012). Rapid isolation and identification of minor natural products by LC-MS, LC-SPE-NMR and ECD: Isoflavanones, biflavanones and bisdiydrocoumarins from *Ormocarpum kirkii*, *Phytochemistry*, 79, 121-128.
- Yepes-Pérez A.F., Herrera-Calderón O. & Quintero-Saumeth J. (2020). *Uncaria tomentosa* (cat's claw): a promising herbal medicine against SARS-CoV-2/ ACE-2 junction and SARS-CoV-2 spike protein based on molecular modeling, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2-17.
- Yoshimatsu K., Shimomura K., Yamazaki M., Saito K. & Kiuchi F. (2003). Transformation of Ipecac (*Cephaelis ipecacuanha*) with *Agrobacterium rhizogenes*. *Planta Medica*, 69, 1018-1023.
- Yu M., Su B. & Zhang X. (2018). Gardenoside suppresses the pain in rats model of chronic constriction injury by regulating the P2X3 and P2X7 receptors, *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 38, 198-203.
- Zhao Y.T., Tan J.Y., Han X.C., Niu F.L., Zhang J.H. & Hu W.N. (2017). Anti-proliferative effect of digoxin on breast cancer cells via inducing apoptosis, *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 21, 5837-5842.

## 10. APÉNDICE. Rayos X

**Tabla 10.1.** Datos cristalográficos para **11**.

Compuesto <b>11</b>	
Fórmula	C <sub>42</sub> H <sub>34</sub> O <sub>16</sub> . H <sub>2</sub> O
Peso molecular	812.71
Tamaño del cristal	-----
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	C2
<i>a</i> (Å)	25.4944(6)
<i>b</i> (Å)	8.6480(2)
<i>c</i> (Å)	10.5971(2)
$\alpha$ (°)	90
$\beta$ (°)	108.5910(10)
$\gamma$ (°)	90
Z	4
Densidad calculada (Mg/m <sup>3</sup> )	1.147
Coefficiente de absorción (mm <sup>-1</sup> )	0.766
F (000)	792
Longitud de onda (Å)	1.54178
Temperatura <i>K</i>	293 (2)
Intervalos del ángulo $\theta$	8.410 a 58.930
Reflexiones colectadas	39369
Reflexiones independientes	3090
Datos/restricciones/parámetros	3090/1/283
Bondad de ajuste sobre F <sup>2</sup>	0.959
Índice de R final [ $I > 2\sigma(I)$ ]	<i>R</i> = 0.0683 <i>R<sub>w</sub></i> = 0.1871

**Tabla 10.1.1** Distancias (Å) de enlace para el compuesto **11**.

---

O(1)-C(1)	1.364(7)
O(1)-C(9)	1.385(7)
C(1)-O(2)	1.201(7)
C(1)-C(2)	1.497(7)
C(2)-C(3)	1.544(6)
C(2)-C(2)#1	1.557(8)
C(2)-H(2)	0.9800
C(3)-C(4)	1.514(6)
C(3)-C(10)	1.517(6)
C(3)-H(3)	0.9800
O(3)-C(18)	1.308(9)
O(3)-C(13)	1.418(7)
O(4)-C(18)	1.205(11)
C(4)-C(5)	1.382(7)
C(4)-C(9)	1.394(7)
C(5)-O(7)	1.385(7)
C(5)-C(6)	1.395(7)
O(5)-C(16)	1.334(8)
O(5)-C(7)	1.414(6)
C(8)-C(7)	1.361(9)
C(8)-C(9)	1.396(7)
C(8)-H(8)	0.9300
O(8)-C(25)	1.246(17)
C(7)-C(6)	1.356(9)
O(7)-C(25)	1.246(12)
C(6)-H(6)	0.9300
O(6)-C(16)	1.196(8)
O(9)-H(9A)	1.12(6)
O(9)-H(10B)	1.11(4)

C(10)-C(11)	1.386(7)
C(10)-C(15)	1.389(7)
C(11)-C(12)	1.390(8)
C(11)-H(11)	0.9300
C(12)-C(13)	1.362(9)
C(12)-H(12)	0.9300
C(13)-C(14)	1.349(8)
C(14)-C(15)	1.373(7)
C(14)-H(14)	0.9300
C(15)-H(15)	0.9300
C(16)-C(17)	1.468(9)
C(17)-H(17A)	0.9600
C(17)-H(17B)	0.9600
C(17)-H(17C)	0.9600
C(18)-C(19)	1.454(13)
C(19)-H(19A)	0.9600
C(19)-H(19B)	0.9600
C(19)-H(19C)	0.9600
C(20)-C(25)	1.428(15)
C(20)-H(20A)	0.9600
C(20)-H(20B)	0.9600
C(20)-H(20C)	0.9600
C(1)-O(1)-C(9)	120.6(4)
O(2)-C(1)-O(1)	116.5(5)
O(2)-C(1)-C(2)	126.9(5)
O(1)-C(1)-C(2)	116.5(4)
C(1)-C(2)-C(3)	111.2(4)
C(1)-C(2)-C(2)#1	109.3(3)
C(3)-C(2)-C(2)#1	115.1(3)
C(1)-C(2)-H(2)	106.9
C(3)-C(2)-H(2)	106.9

C(2)#1-C(2)-H(2)	106.9
C(4)-C(3)-C(10)	110.7(3)
C(4)-C(3)-C(2)	105.6(4)
C(10)-C(3)-C(2)	117.9(4)
C(4)-C(3)-H(3)	107.4
C(10)-C(3)-H(3)	107.4
C(2)-C(3)-H(3)	107.4
C(18)-O(3)-C(13)	120.0(5)
C(5)-C(4)-C(9)	116.7(4)
C(5)-C(4)-C(3)	123.7(4)
C(9)-C(4)-C(3)	119.6(4)
C(4)-C(5)-O(7)	116.5(4)
C(4)-C(5)-C(6)	121.9(5)
O(7)-C(5)-C(6)	121.5(5)
C(16)-O(5)-C(7)	117.3(4)
C(7)-C(8)-C(9)	117.3(5)
C(7)-C(8)-H(8)	121.3
C(9)-C(8)-H(8)	121.3
C(6)-C(7)-C(8)	123.1(5)
C(6)-C(7)-O(5)	119.0(6)
C(8)-C(7)-O(5)	117.8(6)
C(25)-O(7)-C(5)	125.9(7)
C(7)-C(6)-C(5)	118.4(5)
C(7)-C(6)-H(6)	120.8
C(5)-C(6)-H(6)	120.8
O(1)-C(9)-C(4)	121.2(4)
O(1)-C(9)-C(8)	116.4(5)
C(4)-C(9)-C(8)	122.4(5)
H(9A)-O(9)-H(10B)	138(4)
C(11)-C(10)-C(15)	117.1(4)
C(11)-C(10)-C(3)	123.5(4)

C(15)-C(10)-C(3)	119.3(4)
C(10)-C(11)-C(12)	121.4(5)
C(10)-C(11)-H(11)	119.3
C(12)-C(11)-H(11)	119.3
C(13)-C(12)-C(11)	118.9(5)
C(13)-C(12)-H(12)	120.6
C(11)-C(12)-H(12)	120.5
C(14)-C(13)-C(12)	121.3(5)
C(14)-C(13)-O(3)	119.2(5)
C(12)-C(13)-O(3)	119.4(5)
C(13)-C(14)-C(15)	120.0(5)
C(13)-C(14)-H(14)	120.0
C(15)-C(14)-H(14)	120.0
C(14)-C(15)-C(10)	121.3(5)
C(14)-C(15)-H(15)	119.3
C(10)-C(15)-H(15)	119.3
O(6)-C(16)-O(5)	121.1(5)
O(6)-C(16)-C(17)	125.2(6)
O(5)-C(16)-C(17)	113.6(6)
C(16)-C(17)-H(17A)	109.4
C(16)-C(17)-H(17B)	109.5
H(17A)-C(17)-H(17B)	109.5
C(16)-C(17)-H(17C)	109.5
H(17A)-C(17)-H(17C)	109.5
H(17B)-C(17)-H(17C)	109.5
O(4)-C(18)-O(3)	121.2(7)
O(4)-C(18)-C(19)	126.4(8)
O(3)-C(18)-C(19)	112.4(9)
C(18)-C(19)-H(19A)	109.5
C(18)-C(19)-H(19B)	109.5
H(19A)-C(19)-H(19B)	109.5

C(18)-C(19)-H(19C)	109.4
H(19A)-C(19)-H(19C)	109.5
H(19B)-C(19)-H(19C)	109.5
C(25)-C(20)-H(20A)	109.6
C(25)-C(20)-H(20B)	109.4
H(20A)-C(20)-H(20B)	109.5
C(25)-C(20)-H(20C)	109.5
H(20A)-C(20)-H(20C)	109.5
H(20B)-C(20)-H(20C)	109.5
O(7)-C(25)-O(8)	113.0(12)
O(7)-C(25)-C(20)	121.8(10)
O(8)-C(25)-C(20)	121.2(12)

**Tabla 10.1.2.** Ángulos (°) de enlace para el compuesto **11**.

C(9)-O(1)-C(1)-O(2)	171.2(5)
C(9)-O(1)-C(1)-C(2)	-7.1(7)
O(2)-C(1)-C(2)-C(3)	-132.9(6)
O(1)-C(1)-C(2)-C(3)	45.2(6)
O(2)-C(1)-C(2)-C(2)#1	-4.8(8)
O(1)-C(1)-C(2)-C(2)#1	173.4(4)
C(1)-C(2)-C(3)-C(4)	-55.4(5)
C(2)#1-C(2)-C(3)-C(4)	179.6(4)
C(1)-C(2)-C(3)-C(10)	68.8(5)
C(2)#1-C(2)-C(3)-C(10)	-56.1(6)
C(10)-C(3)-C(4)-C(5)	86.7(5)
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	-144.7(5)
C(10)-C(3)-C(4)-C(9)	-94.8(5)
C(2)-C(3)-C(4)-C(9)	33.9(5)
C(9)-C(4)-C(5)-O(7)	178.5(4)

C(3)-C(4)-C(5)-O(7)	-2.9(7)
C(9)-C(4)-C(5)-C(6)	2.8(8)
C(3)-C(4)-C(5)-C(6)	-178.6(5)
C(9)-C(8)-C(7)-C(6)	3.1(9)
C(9)-C(8)-C(7)-O(5)	178.8(5)
C(16)-O(5)-C(7)-C(6)	-86.7(8)
C(16)-O(5)-C(7)-C(8)	97.3(8)
C(4)-C(5)-O(7)-C(25)	130.6(12)
C(6)-C(5)-O(7)-C(25)	-53.6(13)
C(8)-C(7)-C(6)-C(5)	-2.1(9)
O(5)-C(7)-C(6)-C(5)	-177.8(5)
C(4)-C(5)-C(6)-C(7)	-1.1(8)
O(7)-C(5)-C(6)-C(7)	-176.5(5)
C(1)-O(1)-C(9)-C(4)	-17.8(7)
C(1)-O(1)-C(9)-C(8)	164.3(5)
C(5)-C(4)-C(9)-O(1)	-179.5(4)
C(3)-C(4)-C(9)-O(1)	1.8(7)
C(5)-C(4)-C(9)-C(8)	-1.8(8)
C(3)-C(4)-C(9)-C(8)	179.6(4)
C(7)-C(8)-C(9)-O(1)	176.8(5)
C(7)-C(8)-C(9)-C(4)	-1.1(8)
C(4)-C(3)-C(10)-C(11)	72.1(6)
C(2)-C(3)-C(10)-C(11)	-49.5(6)
C(4)-C(3)-C(10)-C(15)	-104.8(5)
C(2)-C(3)-C(10)-C(15)	133.5(4)
C(15)-C(10)-C(11)-C(12)	0.4(8)
C(3)-C(10)-C(11)-C(12)	-176.6(5)
C(10)-C(11)-C(12)-C(13)	-0.1(10)
C(11)-C(12)-C(13)-C(14)	-0.3(10)
C(11)-C(12)-C(13)-O(3)	-178.3(5)
C(18)-O(3)-C(13)-C(14)	102.8(8)

C(18)-O(3)-C(13)-C(12)	-79.1(9)
C(12)-C(13)-C(14)-C(15)	0.3(8)
O(3)-C(13)-C(14)-C(15)	178.4(5)
C(13)-C(14)-C(15)-C(10)	0.1(7)
C(11)-C(10)-C(15)-C(14)	-0.4(7)
C(3)-C(10)-C(15)-C(14)	176.7(4)
C(7)-O(5)-C(16)-O(6)	-2.4(12)
C(7)-O(5)-C(16)-C(17)	179.7(7)
C(13)-O(3)-C(18)-O(4)	11.2(13)
C(13)-O(3)-C(18)-C(19)	-169.6(9)
C(5)-O(7)-C(25)-O(8)	-17(2)
C(5)-O(7)-C(25)-C(20)	-174.8(11)

---

## 10.1. APÉNDICE. Constancia de determinación taxonómica de *Diphysa minutifolia*



A QUIEN CORRESPONDA:

Por medio de la presente se hace CONSTAR la **determinación taxonómica** de TRES ejemplares botánicos constituidos por hojas, flores y frutos secos, los cuales fueron entregados en julio y agosto de 2019 y 2020, por parte de la Dra. Rosa Elva Norma del Río Torres Profesora Investigadora Titular B del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH, al personal del **Herbario de la Facultad de Biología (EBUM) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo**; de acuerdo a la información brindada en la etiqueta de campo con los ejemplares, estas plantas fueron recolectadas en el municipio de Huetamo en el estado de Michoacán de Ocampo, dos ejemplares con fecha de colecta del 4 de agosto de 2019 y uno más con fecha del 9 de agosto de 2020. Debido a que los ejemplares no fueron herborizados de acuerdo a las técnicas estandarizadas no es posible que los ejemplares formen parte de la Colección de Plantas Vasculares del EBUM por lo tanto no se les asignó un número de folio.

Después de realizar observaciones de estructuras morfológicas con el apoyo de una lupa estereoscópica, **se cuenta con la documentación digital** de los caracteres morfológicos distintivos de la especie.

Para la determinación taxonómica con caracteres morfológicos a nivel de **familia** se usaron las claves dicotómicas de la *Flora Fanerogámica del Valle de México* de Rzedowski, J. y G. Calderón de Rzedowski<sup>(1)</sup> y para la determinación a nivel de **género y especie** se usaron las claves de *Trees and Shrubs of Mexico* de Paul Standley<sup>(2)</sup>, en este tratado el autor coloca al género dentro de la tribu Galegeae y las claves de *Studies of Mexican and Central American Plants* de Joseph Nelson Rose<sup>(3)</sup>.

El nombre específico del ejemplar fue:

*Diphysa minutifolia* Rose



El nombre científico fue revisado en las bases de datos del *Missouri Botanical Garden*<sup>(4)</sup> y *The Plant List*<sup>(5)</sup> para revisar que dicho nombre científico es aceptado actualmente así como los taxa supraespecíficos.



Con esta revisión se confirma que *Diphysa minutifolia* Rose **Es un nombre aceptado**

Las categorías taxonómicas supraespecíficas<sup>(1)</sup> son:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superorder: Rosanae Takht.

Orden: Fabales Bromhead

**Familia: Fabaceae Lindl.**

**Género: *Diphysa* Jacq.**

**Especie: *Diphysa minutifolia* L.**

Para esta especie no se han registrado sinonimias.

**Nombres comunes**<sup>(2)</sup>: "xsusuc" (Yucatán) y "retama" (Tamaulipas)

**Descripción de la especie**<sup>(2-3)</sup>: **Arbusto** de 1 a 2 m de alto, rígidamente ramificado, ramas viejas de color gris o rojizas, ramas del primer año puberulentas; **hojas** pequeñas, estrechas, de 2 a 6 cm de largo, estípulas lineales, de 2 a 3 mm de largo; folíolos numerosos 13 hasta 40, pequeños, de 4 a 6 mm de largo, ovado, oblongo, obtuso, pubescentes cuando es joven, glabra en edad; de color verde brillante **inflorescencia** muy reducida, a veces solo 1 o 2 flores éstas de 1.5 cm de largo; brácteas no vistas, indudablemente caducas; **cáliz** ligeramente pubescente, quizá volviéndose glabrado, **ovario** pubescente; los **frutos** son vainas de 4 a 5 cm de largo, infladas.

**Distribución**<sup>(1)</sup>: De Tamaulipas a Yucatán y Chiapas.



Finalmente se realizó un **cotejo** con ejemplares de la misma especie depositadas en el herbario EBUM colectados en Huetamo y Jungapeo, con esto se corrobora la determinación a especie.

Literatura usada para la determinación taxonómica:

- (1) Rzedowski, J. y G. Calderón de Rzedowski. 2001. Flora Fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro, Michoacán, México. 1406 pp.
- (2) Standley, P.C. 1961. Trees and Shrubs of Mexico. Vol. 23. United States National Museum, Smithsonian Institution, Washinton D.C. U.S.A. pag. 478-479.



- (3) Rose J. N. 1909. Studies of Mexican and Central American Plants . Contributions from the United States National Herbarium, Smithsonian Institution. Washington. Vol. XII: 7, Pág. 271.
- (4) Missouri Botanical Garden. © 2020- 4344 Shaw Boulevard - Saint Louis, Missouri 63110. <http://www.tropicos.org> (último acceso: 12 de septiembre de 2019)
- (5) The Plant List (2013) Versión. 1. Publicado en Internet. <http://www.theplantlist.org> (último acceso: 12 de septiembre de 2019)

Morelia, Michoacán a 28 de enero del 2021.

ATENTAMENTE



  
**Biól. Rosa Isabel Fuentes Chávez**  
Curadora de la Colección de Plantas  
Vasculares  
Herbario de la Facultad de Biología  
Universidad Michoacana de San Nicolás de  
Hidalgo

  
**Biól. Norma Patricia Reyes Martínez**  
Técnico Académico "A"  
Herbario de la Facultad de Biología  
Universidad Michoacana de San Nicolás de  
Hidalgo